

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA



**EFEECTO DEL COLUTORIO *CLINOPODIUM BOLIVIANUM* (INCA
MUÑA) EN RELACIÓN CON LA FORMACIÓN DE PLACA
BACTERIANA EN ESTUDIANTES DE LA ESCUELA
PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA UNA PUNO 2017**

TESIS

PRESENTADA POR:

MIRIAM CCALLOHUANCA MAMANI

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

CIRUJANO DENTISTA

PUNO - PERÚ

2018

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

EFFECTO DEL COLUTORIO *CLINOPODIU BOLIVIANUM* (INCA MUÑA) EN
RELACIÓN CON LA FORMACIÓN DE PLACA BACTERIANA EN
ESTUDIANTES DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA UNA
PUNO 2017

TESIS PRESENTADA POR:

BACH. MIRIAM CCALLOHUANCA MAMANI

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE:

CIRUJANO DENTISTA



APROBADA POR:

PRESIDENTE

: 
(Mg.) GUSTAVO ADOLFO VARGAS VARGAS

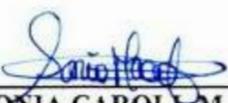
PRIMER MIEMBRO

: 
(Mg.) JHONY RUBEN RODRIGUEZ MAMANI

SEGUNDO MIEMBRO

: 
(M.Sc.) LOURDES LIDIA PACORICONA VILLASANTE

DIRECTOR / ASESOR

: 
(Mg.) SONIA CAROLE MACEDO VALDIVIA

Área : Ciencias de la Salud

Tema : Fitoterapia: productos naturales de uso en odontología

Fecha de sustentación 20 de diciembre del 2018

DEDICATORIA

A Dios por darme tantas cosas bellas y permitirme cumplir mis metas

A mis padres Máximo y Julia por el amor, comprensión y confianza que me brindan por guiar mis pasos en la vida. Estaré eternamente agradecida

A mi tía Lucí por ser como una segunda madre y a mis hermanos Maxwell y Milagros por haber comprendido

A Eduardo por toda la energía e impulso que me trasmite. A todas personas que en este largo camino me apoyaron

MIRIAM

AGRADECIMIENTOS

A la Doctora, Sonia Carroll Macedo Valdivia por su orientación y apoyo en la realización del presente investigación.

Al licenciado Lorgio Palacios Frisancho de la facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional del Altiplano, por colaborar durante la ejecución de la investigación, por brindarnos su tiempo, paciencia y comprensión.

A mis jurados los Docente: Mg. Gustavo Adolfo Vargas Vargas, (Mg.) Jhony Ruben Rodríguez Mamani, Mg Lourdes Lidia Pacoricona Villasante, , por su disposición y apoyo en la culminación de este trabajo.

A todos aquellos que de alguna manera contribuyeron para la realización y culminación de esta investigación.

ÍNDICE GENERAL

| | Pag. |
|--------------------------|-------------|
| ÍNDICE GENERAL | iii |
| ÍNDICE DE FIGURAS | v |
| ÍNDICE DE TABLAS | vi |
| ÍNDICE DE ACRÓNIMOS..... | vii |

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

| | |
|--|---|
| 1.1 El problema de la Investigación..... | 2 |
| 1.2 Antecedentes de la Investigación | 4 |
| 1.2.1 Antecedentes internacionales | 4 |
| 1.2.3 Antecedentes Nacionales | 5 |
| 1.2.4 Antecedentes Locales | 8 |
| 1.3 Importancia y Utilidad | 9 |
| 1.4 Objetivos de la Investigación..... | 9 |

CAPITULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

| | |
|---|----|
| 2.1 Marco Teórico..... | 10 |
| 2.1.1 Bacterias Cariogénicas..... | 10 |
| 2.1.2 Biofilms Dentales | 12 |
| 2.1.3 Medicina Alternativa | 16 |
| 2.1.4 Inca Muña (<i>Clinopodium bolivianum</i> (Benth.)..... | 18 |
| 2.1.5 Colutorios Antisépticos..... | 24 |
| 2.1.6 Clorhexidina..... | 25 |
| 2.2 Hipótesis del Trabajo | 26 |

CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

| | |
|--|----|
| 3.1 Tipo y Diseño de investigación..... | 27 |
| 3.2 Población y muestra de investigación | 27 |
| 3.2.1 Criterios de selección..... | 27 |
| 3.2.3 Operacionalización de variables | 28 |
| 3.3 Técnica e instrumento de recolección de datos..... | 28 |
| 3.3.1 Prueba piloto y validación de instrumento | 28 |

| | | |
|-------------------------------|--|----|
| 3.3.2 | Metodología | 30 |
| 3.4 | Procedimiento de recolección de muestras | 30 |
| 3.5 | Procedimiento y análisis de datos | 32 |
| CAPITULO IV | | |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN | | |
| 4.1 | Resultados | 33 |
| 4.2 | Discusión..... | 40 |
| CONCLUSIONES | | 43 |
| RECOMENDACIONES..... | | 44 |
| REFERENCIAS..... | | 45 |
| ANEXOS | | 49 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Recuento de UFC/ml para <i>Streptococcus mutans</i> de los grupos control, experimental y placebo antes de la aplicación del colutorio | 34 |
| Figura 2. Recuento de UFC/ml para <i>Streptococcus mutans</i> de los grupos control, experimental y placebo después de la aplicación del colutorio | 36 |
| Figura 3. Comparación del recuento de UFC/ml para <i>Streptococcus mutans</i> de los grupos control, experimental y placebo antes y después de la aplicación del colutorio | 38 |
| Figura 4. Muña fresca | 55 |
| Figura 5. Preparación de colutorio de muña | 55 |
| Figura 6. Esterilización de placas petri | 55 |
| Figura 7. Recolección de muestras | 55 |
| Figura 8. Muestras en el laboratorio | 55 |
| Figura 9. Preparación del medio de cultivo | 55 |
| Figura 10. Sembrado de muestra en agar sangre | 56 |
| Figura 11. Medio de cultivo agar sangre | 56 |
| Figura 12. Sembrado de muestras | 56 |
| Figura 13. Recuento de colonias | 56 |
| Figura 14. Recuento de placas | 56 |
| Figura 15. Tendido placas | 56 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Usos de la muña se aprecia los múltiples usos que se le da a la muña en la medicina alternativa..... | 20 |
| Tabla 2. Características físico químicas de la Muña. | 21 |
| Tabla 3. Comparación del recuento de las UFC/ml de Streptococos mutans en el grupo control, experimental y placebo antes y después de la aplicación del colutorio..... | 37 |
| Tabla 4. Efectividad antibacteriana de los grupos control, experimental y placebo frente a los Streptococos mutans | 39 |
| Tabla 5. ANVA Para recuento de unidades formadoras de colonias para Streptococcus mutans después de la aplicación de los tres colutorios grupos, control, experimental y placebo..... | 57 |
| Tabla 6. Análisis estadísticos para recuento de unidades formadoras de colonias para Streptococcus mutans después de la aplicación de los colutorios para los tres grupos (tratamiento)..... | 57 |
| Tabla 7. Recuento total de UFC/ml de Streptococcus mutans del antes y después de la aplicación del colutorio para la clorhidina 0.12%, muña 30% y agua destilada por cada unidad experimental con tres replicas por paciente..... | 58 |
| Tabla 8. Recuento de UFC/ml de Streptococcus mutans de antes y después de la aplicación del colutorio de clorhidina al 0.12% y su efectividad inhibitoria..... | 60 |
| Tabla 9. Recuento de UFC/ml de Streptococcus mutans de antes y después de la aplicación del colutorio de muña al 30% y su efectividad inhibitoria..... | 60 |
| Tabla 10. Recuento de UFC/ml de Streptococcus mutans de antes y después de la aplicación del colutorio de agua destilada y su efectividad inhibitoria. | 61 |

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

- UFC** Unidades Formadoras de Colonia
- ml** mililitro
- OMS** Organización Mundial de la Salud
- ADA** Asociación Dental Americana
- TSA** Agar tripticasa de soya
- CIM** concentración inhibitoria minima
- Kcal** kilocalorías
- Ca** Calcio
- P**Fosforro
- Fe** Fierro
- CLHX** Clorhexidina

RESUMEN

Esta investigación tuvo como Objetivo determinar la efectividad inhibitoria del colutorio de *Clinopodium Bolivianum*(Inca Muña) en relación a la placa bacteriana en estudiantes de la Escuela Profesional de Odontología UNA Puno 2017. Materiales y métodos La muestra estuvo conformado por 30 estudiantes dividido en 3 grupos de 10 con 3 repeticiones por muestra conformado por el grupo experimentación colutorio de (Inca Muña al 30 %), grupo control (clorhexidina al 0.12%) y el grupo placebo (agua destilada) se procedió a tomar las muestra de los tres grupos respectivamente antes de la aplicación del colutorios se recolectaron las muestras en horas de la mañana con hisopo estéril y un tubo de ensayo La segunda fase se recolectaron muestras después de la aplicación de dichos colutorios en horas de la tarde. El trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano. Donde se realizó al cultivo de muestras en agar tripticasa de soya seguidamente, se procedió al conteo unidades formadoras de colonia(UFC) comparando en una ficha de datos el antes y después de UFC/ml .Los datos del recuento de unidades formadoras de colonias para *Streptococcus Mutans* se expresaron a través de medidas de tendencia central y dispersión (promedio y desviación estándar, respectivamente) y analizados a través del análisis de varianza (ANVA) de los grupos de control, experimental y placebo antes y después de la aplicación del colutorio en un Diseño Completo al Azar. Resultados Se determinó que la infusión de muña usado como colutorio a una concentración del 30% tuvo una efectividad inhibitoria del 60.31 % frente a las UFC/ml de *Streptococcus mutans*, estos resultados son relativamente inferiores a la efectividad inhibitoria del colutorio de clorhexidina al 0.12%, que tuvo una efectividad inhibitoria del 87.78 % frente a las UFC/ml de *Streptococcus mutans* conclusiones se concluye el colutorio de (*Clinopodium bolivianum*) muña (30%) si tiene efectividad antimicrobiana frente a *Streptococcus mutans*.

Palabras claves *Clinopodium Bolivianum*(Inca Muña),clorhexidina, colutorio, *Streptococcus Mutans*

ABSTRACT

The objective of this research was to determine the inhibitory effectiveness of Clinopodium Bolivianum mouthwash (Inca Muña) in relation to bacterial plaque in students of the Professional School of Dentistry UNA Puno 2017. Materials and methods The sample consisted of 30 students divided into 3 groups of 10 with 3 repetitions per sample made up of the experimental group of mouthwash (30% Inca Muña), control group (0.12% chlorhexidine) and the placebo group (distilled water) were sampled from the three groups respectively. From the mouthwash application the samples were collected in the morning hours with sterile swab and a test tube. The second phase samples were collected after the application of said mouthwashes in the afternoon hours. The research work was carried out in the Microbiology Laboratory of the Faculty of Biological Sciences of the Universidad Nacional del Altiplano de Puno. Where sample culture was carried out on trypticase soy agar, counting colony forming units (CFU) were then counted, comparing in a data record the before and after CFU / ml. The colony-forming unit count data for Streptococcus Mutans were expressed through measures of central tendency and dispersion (mean and standard deviation, respectively) and analyzed through the analysis of variance (ANVA) of the control, experimental and Placebo before and after the mouthwash application in a Random Complete Design. Results It was determined that the infusion of muña used as a mouthwash at a concentration of 30% had an inhibitory effectiveness of 60.31% against the CFU / ml of Streptococcus mutans, these results are relatively lower than the inhibitory effectiveness of chlorhexidine mouthwash 0.12% , which had an inhibitory effectiveness of 87.78% against the CFU / ml of Streptococcus mutans conclusions concludes the mouthwash of (Clinopodium bolivianum) muña (30%) if it has antimicrobial effectiveness against Streptococcus mutans.

Keywords Clinopodium Bolivianum (Inca Muña), chlorhexidine, mouthwash, Streptococcus Mutans

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

La microbiota oral es uno de los ecosistemas microbianos más antiguos en ser reconocido, y su descripción inicia en 1863 cuando Anton van Leewenhoek observa por primera vez en el microscopio a estos microorganismos en placas dentales. Actualmente los procesos de secuenciación y el análisis del genoma a gran escala han permitido construir bases de datos genómicas, realizar linajes microbianos específicos y conocer que no solamente hacen parte de la microbiota oral humana unos 600 o 700 taxones. En la cavidad oral podemos encontrar más de 500 especies de bacterias, en niveles de 10^8 - 10^9 bacteria por ml de saliva o mg de placa dental^{1,2}

El conocimiento sobre la diversidad microbiana es de importancia porque ayuda a comprender la organización de estas comunidades microbianas sobre la cavidad oral, cómo interactúan y mantienen su homeóstasis en el ser humano, teniendo en cuenta que la cavidad oral es la puerta de entrada de posibles infecciones tanto en el sistema gastrointestinal y respiratorio. Comprender la ecología oral es una tarea compleja, debido a que presenta una gran variedad de hábitats dentro de la cavidad oral. Esta variedad de hábitats de la mucosa dependen de las concentraciones de oxígeno, la disponibilidad de nutrientes, la temperatura, la exposición a factores inmunológicos y las características anatómicas³

La distribución de la especies del género *Streptococcus* se encuentran con mayor numero en tejidos blandos, saliva y en la lengua. Las especies del género *Actinomyces* se encuentran a nivel supra e infragingival y en fisuras de la lengua. Otras bacterias como *Veillonellaparvula* y *Neisseria mucosa* pueden ser aisladas en todos los hábitats orales.⁴

Actualmente las plantas tienen una gran importancia debido a su uso en la medicina tradicional el conocimiento científico de algunas especies es a un desconocido pero necesario para aprender a investigar los recursos naturales que tenemos, para poder cumplir con los métodos y requerimientos técnicos que la ciencia actual exige. Las plantas han estado íntimamente ligadas al hombre desde sus inicios, formando parte de su alimentación y cura de sus diferentes dolencias de varias civilizaciones, tanto

occidentales como orientales, han venido usándolas constantemente y de manera empírica en el campo de la salud por lo cual su importancia y utilidad es irrefutable. Con la llegada de la tecnología e investigación sobre ellas, se ha podido identificar sus componentes y principios activos concediendo a la fitoterapia un espacio importante lugar dentro la medicina. De esta manera, se han venido utilizando a niveles generales como antibacterianos, antiinflamatorios, anticarcinógenos, cicatrizantes y analgésicos.^{5,6} Actualmente el uso de plantas medicinales tiene mucha aceptación de manera que se usa en la medicina alternativa, puede tratar diversas dolencias claro está que este tipo de tratamiento en base a plantas se remonta a los inicios de la humanidad puesto que nuestros antepasados hacían usos de estas para aliviar muchas dolencias, por tal motivo es necesario rescatar este conocimiento en beneficio de nuestra población. La muña es una planta que en la sierra del Perú tiene muchos usos: como condimento, para repelar insectos, aliviar malestares gastrointestinales en tratamientos de inflamación, asma, halitosis entre otros⁷

1.1 EL PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

La salud bucal tiene mucha importancia en la salud general del ser humano: es esencial para una buena salud, el bienestar integral del individuo y es fundamental para una buena calidad de vida; contribuye a la masticación de los alimentos, para facilitar la digestión y el aprovechamiento de los nutrientes de los alimentos que se consuman. En el Perú cerca del 90 por ciento de la población padece de caries dental, además de otras enfermedades bucales como la enfermedad periodontal y las maloclusiones⁸

La caries dental es una enfermedad infecciosa multifactorial, donde los microorganismos organizados en una biopelícula, denominada placa dental, constituyen un factor determinante en el desarrollo de la lesión de caries, y esta representa el signo tardío de la enfermedad.⁹

Los biofilms se han convertido en un tema controversial tanto en el campo de la microbiología ambiental y las enfermedades infecciosas, se pueden encontrar prácticamente en cualquier lugar: colonizan una amplia variedad de superficies húmedas, entre ellas, la cavidad oral, el fondo de barcos, muelles, tuberías y de rocas de arroyos. La razón de la existencia del biofilm es que permite que los microorganismos se adhieren a las superficies y se multipliquen. Otro ejemplo

cotidiano de biofilm lo constituye la placa dental, que día a día nos esforzamos por eliminar la película de bacterias que recubre la superficie de los dientes para evitar un desarrollo excesivo de microorganismos que puede provocar desmineralización del esmalte dental. ^{10,11}

La formación de la placa involucra la interacción entre las bacterias colonizadoras primarias, la película adquirida del esmalte y la desmineralización del esmalte. Si bien los estudios experimentales demostraron que todas las bacterias presentes en boca son cariogénicas (*Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*) y los lactobacilos que poseen la capacidad de producir ácido y de bajar el nivel de pH, en asociación con algunas lesiones de caries dental en humanos ^{11,12}

La Asociación Dental Americana (ADA) recomendó el régimen mecánico de higiene oral consistente en dos cepillados y una higiene interdental al día. Hasta la fecha este protocolo de higiene oral ha demostrado ser altamente efectivo en ayudar a controlar la caries y las enfermedades periodontales. Sin embargo cuando régimen mecánico de higiene oral no se cumple del todo, por diversas razones se refleja en la población la alta prevalencia e incidencia de patologías orales. ^{13, 14}

Dichas patologías siguen siendo de gran preocupación no sólo para los profesionales de la salud oral sino también para los pacientes. Como ha señalado la OMS recientemente, las enfermedades orales, en particular la caries y las enfermedades periodontales, constituyen un problema de salud de alcance mundial que afecta a los países industrializados y a los países en desarrollo, mostrando mayor prevalencia en las comunidades socialmente deprimidas. Ante las limitaciones que presentan las prácticas de higiene oral se puede usar los colutorios pueden desempeñar un papel clave como coadyuvantes de los métodos mecánicos para la prevención de caries. Incluso pacientes que conocen las técnicas tienen dificultades en eliminar la placa de zonas de difícil acceso y en particular en zonas posteriores. Además los pacientes de más edad con limitaciones físicas o psíquicas, prótesis mal colocadas, aparatos de ortodoncia pueden encontrar dificultades a la hora de utilizar correctamente el cepillo y los instrumentos de higiene interdental. ^{15, 16.}

Entre los 12 países de mayor diversidad biológica de la tierra nuestro país está considerado como uno que presenta mayor diversidad tanto por el número de especies y recursos como por la variedad de ecosistema. El conocimiento científico de ciertas especies aún es desconocido y es necesario que aprendamos a investigar los recursos naturales que tenemos en la región, pero con los métodos y requerimientos técnicos que la ciencia actual exige. En nuestro medio algunas plantas medicinales en el área de salud dental están siendo utilizadas en diversas formulaciones farmacéuticas así tenemos los enjuagues bucales, colutorios soluciones tópicas entre otros, los beneficios que ofrecen a la población son mejores tanto en el aspecto terapéutico como económico^{17,18}

1.2 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

1.2.1 ANTECEDENTES INTERNACIONALES

Cadena E. (2015) Quito- Ecuador

“Inhibición del *streptococcus mutans*: análisis in vitro de tres agentes antimicrobianos xilitol, triclosán y clorhexidina en dentífricos” El *Streptococcus mutans* es el agente causal de la caries dental, los agentes antimicrobianos utilizados en los dentífricos han desarrollado medidas específicas de control. El Objetivo fue evaluar mediante pruebas microbiológicas la efectividad de dentífricos, que contienen agentes antimicrobianos xilitol, triclosán y clorhexidina frente a la cepa de *Streptococcus mutans* midiendo halos de inhibición. Materiales y métodos: Los dentífricos utilizados Denture xilitol, Colgate Total 12 triclosán y Encident clorhexidina, fueron diluidos (1:2, 1:4 y 1:8) con agua destilada estéril. Se analizaron 36 cepas, se distribuyeron 12 cepas por grupo y 4 para cada dilución. Resultados: el agente antimicrobiano con mayor poder de inhibición frente al *Streptococcus mutans* es la clorhexidina notándose halos de inhibición de 18mm, seguido del triclosán y por último el xilitol. Conclusión: el tipo, la concentración de los agentes antimicrobianos dependen del poder de inhibición.¹⁹

Pelaez P. (2014) Quito- Ecuador

“Evaluación del efecto antimicrobiano del triclosan y clorexhidina sobre el *streptococcus mutans*(estudio in vitro)”. El presente proyecto pretende evaluar el efecto antimicrobiano de dos principios activos de los colutorios: triclosán y clorhexidina, como tratamiento profiláctico ante una de las principales cepas causantes de la caries dental como el *Streptococcus mutans* ; para lo cual se realizó un antibiograma en agar MullerHinton

enriquecido con 5% de sangre de cordero, para evaluar el efecto antibacteriano del triclosán al 0,03% y clorhexidina al 0.12%; obteniendo resultados La clorhexidina obtuvo valores de inhibición ante el *Streptococcus mutans* ATCC 35668 de 15.35 mm mientras que el triclosán obtuvo una inhibición de 6mm (nula), por lo que se puede concluir que la clorhexidina es más efectiva como agente antimicrobiano y coadyuvante en la higiene bucal. favorables para este último con una media en sus halos de inhibición de 15,35 mm de diámetro²⁰

1.2.3 ANTECEDENTES NACIONALES

Huari M.(2014) Lima- Perú

“Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *minthostachys mollis* (muña) en *streptococcus mutans*” El presente trabajo se evaluó el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* en *Streptococcus mutans*, la especie vegetal se recolectó de la ciudad de Tarma (Junín) Se adquirió la cepa patrón de *Streptococcus mutans*, se reactivó y sembró en placas con medio de cultivo Agar tripticasa soya (TSA), se realizó las pruebas de susceptibilidad. Para estas pruebas, se prepararon diluciones del aceite esencial. Se utilizaron discos de papel de filtro estériles que fueron embebidos con 10 micro litros del aceite esencial de muña al 100 %, otros discos se prepararon con aceite esencial de muña al 50 % y 25 % utilizó como solvente y control negativo DMSO (dimetilsulfóxido), y como control positivo se utilizó discos de amoxicilina. Se realizó las mediciones de los halos de inhibición utilizando vernier. En la muestras de aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100% obtuvo promedio de 10.79 mm, aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 50 % promedio de 7.6 mm, aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 25 % promedio de 5 mm (tamaño de discos) igual que el control negativo (DMSO), el control positivo (amoxicilina) promedio de 49.3 mm. Se concluyó que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100 % comparado con el control positivo (amoxicilina) presentó menor efecto antibacteriano²¹

Cruzado L. (2012) Trujillo- Perú

“Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *minthostachys mollis* (muña) en *streptococcus mutans*” El objetivo de la presente investigación fue determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) obtenidos mediante la técnica de arrastre de vapor de los talluelos, hojas y flores de la “Muña” que fue la sustancia en estudio, frente al

Streptococcus mutans. El estudio se realizó utilizando cuatro concentraciones del aceite esencial (25%, 50%, 75% y 100%); también se utilizó la amoxicilina de 30ugr como control positivo y agua destilada como control negativo; los cuales fueron puestos en contacto con el microorganismo de estudio; para así poder determinar la concentración inhibitoria mínima.

Al realizar las pruebas de sensibilidad in vitro se obtuvo el siguiente resultado: Al determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM), realizando el conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC's) de *Streptococcus mutans*, se concluyó que a la concentración de 50% presentó efecto inhibitorio y este efecto se incrementa en relación directa con el aumento de la concentración y este es estadísticamente similar al obtenido por el control positivo (amoxicilina).²²

Yapuchura R. (2010) Lima- Perú

“Estudio de los componentes antioxidantes de las hojas de muña (*minthostachys mollis*(kunth) e inca muña (*clinopodium bolivianum*(benth.) En la presente investigación se estudió el contenido y perfil de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de las hojas de la muña (*Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb.) e inca muña (*Clinopodium bolivianum* (Benth.) El contenido de compuestos fenólicos totales encontrados en ambos arbustos presentaron valores similares, mientras que la capacidad antioxidante de la inca muña destacó por sobre la encontrada en la muña..

Por medio del análisis por cromatografía líquida de alta performance con el detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD), En la fracción acetato de etilo se detectaron a los ácidos hidroxicinámicos del tipo ácido cafeico; flavanonas del tipo eriodictiol y las flavonas del tipo apigenina; siendo los ácidos hidroxicinámicos los más representativos. Se encontraron diferencias en el perfil y concentración de los compuestos fenólicos para ambas plantas lo que establecería diferencias sustanciales entre ambas especies pertenecientes a la misma familia Lamiaceae.²³

Fernández K, García C (2009)

“Efectividad antibacteriana in vitro de una solución a base de camelia sinensis y *minthostachys mollis* frente a flora salival mixta en pacientes ortodónticos” Realizaron una investigación experimental para determinar la efectividad antibacteriana de la

solución a base de *Camelia sinensis* al 15% (Té verde) y *Minthostachys mollis* al 30% (muña) frente a la flora salival mixta en pacientes Ortodónticos, se recolecto las 30 muestras de saliva no estimulada del servicio de ortodoncia y ortopedia maxilar del Instituto de Salud del Niño. Se Concluyó que solución a base de *Minthostachys mollis* y *camelia sinensis* presento mayor efectividad antibacteriana siendo esta la solución de efectividad similar a la Clorhexidina y Vitis Ortodónticos²⁴

Carhuapoma M. y Col (2009) Lima – Perú

“Actividad antibacteriana del aceite esencial de *minthostachys mollis* griseb “ruyaq muña” El objetivo del presente trabajo fue determinar la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “ruyaq muña” frente a *Helicobacter pylori*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi* y *Pseudomonas aeruginosa*. La actividad antibacteriana se determinó por el método de excavación placa cultivo; resultando en orden de sensibilidad, para *S. dysenteriae* 21,41 mm; *H. pylori* 17,07 mm; *S. typhi* 14,25 mm y *P. aeruginosa* 11,45 mm. La concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) para *H. pylori* se determinó por el método de dilución en microplacas, resultando 2 µg/mL. Para las demás bacterias se determinó por el método de dilución, siendo para *S. dysenteriae* 4 µg/mL, *S. typhi* 4 µg/mL, y *P. aeruginosa* 9 µg/mL de CMI y 10 µg/mL de CMB. Los porcentajes de inhibición comparados con ciprofloxacino, fueron: *H. pylori* 177,27; *S. dysenteriae* 126,11; *S. typhi* 63,44 y *P. aeruginosa* 42,29 y comparado con cloranfenicol: *P. aeruginosa* de 225,56; *S. dysenteriae* 171,97; *S. typhi* 135,95 y *H. pylori* 92,86. La densidad del aceite esencial es 0,9029 g/mL, índice de refracción 1,56689 y el porcentaje de rendimiento 2,4 v/p. Se detectó presencia de fenoles, los que validan la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *M. mollis*²⁵

Moromi H. y Col(2009) Lima – Perú

“Anti bacterianos naturales orales: Estudios en la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos” La caries dental es una enfermedad que afecta al 95 % de la población humana. Uno de los medios para enfrentarla en los tiempos modernos, es el uso de las sustancias naturales, especialmente aquellas que contienen polifenoles, sea: 1) como simple infusión, 2) luego de un tiempo de hervido, y 3) como extracto luego de un proceso químico. A partir del análisis de los resultados de los estudios se puede citar las siguientes conclusiones: 1) En estudios in vitro, hay

evidencias del efecto antibacteriano de los principios naturales (Extracto de Propóleo, Entlosy luninovogranatense, *Mintlostachys mollis*, *Camellia sinensis* y Croton antibacterianos naturales orales, estudios Inchleri) para la flora bucal. Así mismo, no se observó efecto antibacteriano con: Aloe vera y Uncaria tomentosa de otra manera En estudio in vitro, *Camellia sinensis* ha demostrado capacidad de evitar la formación de placa bacteriana mostrando efecto antibacteriano oral hasta 30 minutos después del enjuague bucal²⁶

1.2.4 ANTECEDENTES LOCALES

Ccallo S. (2013) Puno - Perú

La investigación se realizó con el objetivo de determinar la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial del *Minthostachys mollis* (muña) frente a la actividad bacteriana de *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis*. Se trabajó con muestras tipificadas de *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis* y el aceite esencial de la muña. Se usó aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) a diferentes concentraciones frente a la actividad bacteriana de *Streptococcus mutans* $P < 0.01$ y del efecto de inhibición del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) a diferentes concentraciones frente a la actividad bacteriana de *Porphyromonas gingivalis* $P < 0.01$ ANOVA Se utilizó la prueba T- Student para determinar la diferencia estadística significativa $P < 0.05$ del efecto inhibitorio de aceite esencial frente al *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis*. Los resultados fueron que la concentración mínima inhibitoria para *Streptococcus mutans* es 0.448g/ml mm de aceite esencial, ya que la concentración inhibe el 50% del crecimiento bacteriano y para *Porphyromonas gingivalis* es mayor a 0.448g/ml de aceite esencial, ya que es la mayor concentración en la que se trabajó y solo se inhibió el 23.05 % de crecimiento bacteriano. Se concluye que el aceite esencial de muña inhibe a *Streptococcus mutans* y a *Porphyromonas gingivalis*²⁷

1.3 IMPORTANCIA Y UTILIDAD

La presente investigación pretende efectuar un aporte científico para futuras investigaciones y sobre la efectividad del colutorio de *Clinopodium bolivianum*(Inca Muña) se pretende usar el colutorio como un colutorio frente a la placa bacteriana como una nueva alternativa al alcance de toda la población

El estudio planteado dará a conocer a los profesionales de la salud nuevas alternativas para la prevención de la placa dental y así poder contrarrestar problemas de salud bucal. Se espera que los resultados de la investigación permitan aprovechar las propiedades de las plantas naturales que encontramos en nuestro medio. Las ventajas del uso de la muña son diversas: fácil acceso y manejo, bajo costo y sobre todo posee propiedades antibacterianas teniendo en cuenta la gran aceptación de la población por la medicina alternativa, esta investigación permitirá valorar la actividad antibacteriana del *Clinopodium bolivianum*(Inca Muña) que se presenta en esta investigación como colutorio.

1.4 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

OBJETIVO GENERAL

Determinar la efectividad inhibitoria del colutorio de *Clinopodium bolivianum*(Inca Muña) frente a placa bacteriana en estudiantes de la Escuela Profesional de Odontología UNA Puno 2017

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la cantidad de las Unidades Formadoras Colonia de *Streptococcus mutans* en los grupos experimentación, control y placebo antes de aplicación de colutorios.
- Determinar la cantidad de las Unidades Formadoras Colonia de *Streptococcus mutans* en el grupo experimentación, control y placebo después de la aplicación del colutorios.
- Comparar las Unidades Formadores Colonias antes y después de la aplicación de los colutorios en los tres grupos de investigación.

CAPITULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 MARCO TEÓRICO

2.1.1 BACTERIAS CARIOGÉNICAS

En la boca se encuentran tres especies bacterias principalmente relacionadas con la caries: Streptococcus, con las sub especies S. muntans, S. sobrinus y S. sanguinis (antes llamado S. sanguis); Otra especie relacionada con la etiología y patogénesis de la caries son tambien especies de Lactobacillus spp. Dichos microorganismos se asocian mayormente con la colonización de zonas retentivas creadas por las lesiones en las que quedan atrapados físicamente, con las subespecies L. casei, L. fermentum, L plantarum y L. oris y los actinomices, con las subespecies A. israelis. Entre las cuales las principales bacterias que intervienen en la formación de la caries dental son:^{28,29}

Streptococcus mutans

Son cocos Gram positivos, dispuestos en cadenas cortas de 4 a 6 cocos, los cuales miden de 0.5 a 0.8 um de diámetro, anaerobios facultativos, forman parte de la flora microbiana residente de la cavidad bucal y vías respiratorias altas, son patógenos oportunistas en enfermedades humanas como la caries dental y la endocarditis infecciosa, entre otras.³⁰

Higashida (2009) ha atribuido propiedades propias del *S. mutans* es un microorganismo acidógeno porque produce ácido láctico; es acidófilo porque puede sobrevivir y desarrollarse en un pH bajo, y también es acidúrico porque es capaz de seguir generando ácido con un pH bajo. A esto Bordoni et al. (2010) ha añadido que posee un sistema de transporte para la sacarosa, produce polisacáridos extracelulares que ayudan a la adherencia bacteriana y produce polisacáridos intracelulares

Lactobacillus. Aparecen cuando existe una frecuente ingesta de carbohidratos, producen gran cantidad de ácidos y cumplen importante papel en lesiones dentinarias.³⁰

Actinomicces.

Relacionados con lesiones cariosas radiculares, raramente inducen caries en esmalte, producen lesiones de progresión más lenta que los otros microorganismos³¹

Entre los factores de patogenicidad presentes en *Streptococcus mutans* destacan

1. Acidogenicidad: el estreptococo puede fermentar los azúcares de la dieta para originar principalmente ácido láctico como producto final del metabolismo. Esto hace que baje el pH y se desmineralice el esmalte dental.

2. Aciduricidad: Es la capacidad de producir ácido en un medio con pH bajo.

3. Acidofilicidad: El *streptococo mutans* puede resistir la acidez del medio bombeando protones (H⁺) fuera de la célula.

4. Síntesis de glucanos y fructanos: por medio de enzimas como glucosil y fructosil transferasas (GTF y FTF), se producen los polímeros glucano y fructano, a partir de la sacarosa. Los glucanos insolubles pueden ayudar a la bacteria a adherirse al diente y ser usados como reserva de nutrientes. Las glucosiltransferasas catalizan la hidrólisis de dos moléculas de sacarosa en sus monosacáridos constituyentes: la alfa-D-glucosa y la beta-D-fructuosa. Las moléculas de glucosa resultantes, son polimerizadas por enlaces alfa (1-6), alfa (1-4) o alfa (1-3) y forman los glucanos extracelulares bacterianos y se liberan dos moléculas de fructuosa. De acuerdo con las características de solubilidad de su producto, las glucosiltransferasas se clasifican en: GTF-S, las que sintetizan el dextrano, un glucano que posee predominantemente uniones lineales alfa (1-6), es soluble en agua y de aspecto globular, GTF-I, sintetiza un glucano insoluble y fibrilar con predominio de uniones alfa (1-3) y la GTF-SI, sintetiza ambos tipos de glucanos.³¹

El *streptococo mutans* secreta los tres tipos de glucosiltransferasas. Al producto de la GTF-I y la GTF-SI, con predominio alfa (1-3), se le denomina mutano. Su insolubilidad en agua, viscosidad y aspecto fibrilar, lo involucra en los fenómenos de adherencia, agregación y acumulación bacteriana en la placa dental. De esta manera la capacidad de producir mutano, está involucrada en el poder cariogénico del *streptococo mutans*.³¹

5. Producción de dextranasa.

Las bacterias tienen la posibilidad de sintetizar y liberar enzimas glucanohidrolasas, como la dextranasa y la mutanasa. Estas se disponen en la superficie de las células bacterianas en contacto con el glucano, lo hidrolizan y facilitan así el paso de los productos de la hidrólisis hacia el interior de la misma. Por tanto, los glucanos extracelulares pueden ser utilizados por las bacterias como fuente de energía. Además de movilizar reservas de energía, esta enzima puede regular la actividad de las glucosiltransferasas removiendo productos finales de glucano. Se ha demostrado que el *Streptococcus mutans* está implicado en el inicio de la lesión de caries, en los últimos años se han realizado una serie de estudios, entre los que se destaca el estudio de Fitzgerald y Keyes en 1960, quienes demostraron el papel de *Streptococcus mutans* como agente microbiano cariogénico en caries experimental en humanos, en las muestras de placa dental in situ sobre lesiones de caries iniciales de mancha blanca. Además, Van Houte en 1994, señaló que *Streptococcus mutans* constituye una alta proporción de la flora cultivable antes y durante el inicio de la lesión de caries.³²

Por otra parte, Becker y col en 2002, a través de técnicas moleculares de identificación bacteriana, señalaron la presencia de *Streptococcus mutans* en todas las lesiones de caries profundas examinadas, indicando una fuerte asociación de esta especie con lesiones avanzadas de caries. Este hallazgo contrasta con estudios anteriores donde se emplearon medios de cultivo, como los realizados por Loeschesyed en 1973, por Hoshino y col en 1984, quienes reportaron que el *Streptococcus mutans* solo constituye una pequeña parte de la flora cultivable en áreas profundas de dentina cariada. También, se reportaron la presencia en lesiones de caries profunda pero en menos cantidades de *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus parasanguis* y *Streptococcus constellatus*, las cuales se encuentran asociadas con lesiones de placa profunda. Autores como, Berkowitz, Kohler, col y Van Houte han sugerido al *Streptococcus mutans* como el principal agente causante de la formación de caries dental.³¹

2.1.2 BIOFILMS DENTALES

Los biofilms pueden encontrarse prácticamente en cualquier lugar: colonizan una amplia variedad de superficies húmedas, entre ellas, la cavidad oral, el fondo de barcos y muelles y el interior de tuberías y de rocas de arroyos. Los microbiólogos que estudian el medio ambiente están interesados en la prevención de los efectos de los

biofilms en los procesos industriales sucios o como alternativa, en la utilización de biofilms para fines productivos (p. ej., en las plantas de tratamiento de aguas residuales). Los biofilms constan de una o más comunidades de microorganismos, organizados en un glicocáliz, que están unidos a una superficie sólida. La razón de la existencia del biofilm es que permite que los microorganismos se adhieran a las superficies y se multipliquen de esta forma, las bacterias adheridas que crecen en un biofilm despliegan una amplia gama de características que proporcionan una serie de ventajas con respecto a las bacterias¹⁰

Otro ejemplo cotidiano de biofilm lo constituye la placa dental, que cada día nos esforzamos por eliminar la película de bacterias que recubre la superficie de los dientes para evitar un desarrollo excesivo de microorganismos que puede provocar un deterioro del esmalte dental. La capacidad de formación de biofilm no parece estar restringida a ningún grupo específico de microorganismos y hoy se considera que bajo condiciones ambientales adecuadas todos los microorganismos pueden formar biofilms. Aunque la composición del biofilm es variable en función del sistema en estudio, en general, el componente mayoritario del biofilm es el agua, que puede representar hasta un 97% del contenido total. Además de agua y de las células bacterianas, la matriz del biofilm es un complejo formado principalmente por exopolisacáridos. En menor cantidad se encuentran otras macromoléculas como proteínas, DNA y productos diversos procedentes de la lisis de las bacterias¹¹

Los trabajos en sus inicios sobre la estructura del biofilm, una de las cuestiones que surgía con mayor interrogante era cómo las bacterias en el interior del biofilm podían tener acceso a los nutrientes o al oxígeno. Estudios realizados utilizando microscopía confocal han mostrado que la arquitectura de la matriz del biofilm no es sólida y presenta canales que permiten el flujo de agua, nutrientes y oxígeno incluso hasta las zonas más profundas del biofilm. La existencia de estos canales no evita sin embargo, que dentro del biofilm podamos encontrarnos con ambientes diferentes en los que la concentración de nutrientes, pH u oxígeno es diferente. Esta circunstancia aumenta la heterogeneidad sobre el estado fisiológico en el que se encuentra la bacteria dentro del biofilm y dificulta su estudio¹¹

Etapas en el proceso de formación del biofilm

La etapa inicial del proceso de formación del biofilm es la adherencia sobre la superficie. En bacterias Gram negativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Escherichiacoli*, *Salmonellaenterica*) se ha visto que los flagelos, las fimbrias de tipo I, IV son importantes para la etapa de adherencia primaria. La motilidad parece que ayuda a la bacteria a alcanzar la superficie y contrarrestar las repulsiones hidrofóbicas. Sin embargo, aunque la motilidad ayuda al proceso no parece ser un requisito esencial, pues muchas bacterias Gram positivas inmóviles como estafilococos, estreptococos y micobacterias son capaces de formar biofilm. En el caso de las bacterias Gram positivas se ha descrito la participación de proteínas de superficie en esta primera etapa de adherencia primaria. Una vez que la bacteria se ha adherido a la superficie, comienza a dividirse y las células hijas se extienden alrededor del sitio de unión, formando una microcolonia similar a como ocurre durante el proceso de formación de colonias en placas de agar¹².

En una etapa posterior la bacteria comienza a secretar un exopolisacárido que constituye la matriz del biofilm y forma unas estructuras similares a setas (*mushrooms*) entre las cuales se observa la presencia de canales. La composición del exopolisacárido es diferente en cada bacteria. *P. aeruginosa*, celulosa en *S. typhimurium*, un exopolisacárido rico en glucosa y galactosa en *V. cholerae*, poly-N-acetilglucosamina en *S. aureus*.³²

Estudios recientes han puesto de manifiesto que incluso una misma bacteria, dependiendo de las condiciones ambientales en las que se encuentre, puede producir distintos exopolisacáridos como componentes de la matriz del biofilm. Así, algunas cepas de *P. aeruginosa* son capaces de producir además un polisacárido rico en glucosa que forma una película en la interfase medio aire al que se ha denominado "Pellican". Finalmente, algunas bacterias de la matriz del biofilm se liberan del mismo para poder colonizar nuevas superficies cerrando el proceso de desarrollo de formación del biofilm. La liberación de las bacterias desde el biofilm es el proceso que menos se conoce. En el caso de *Staphylococcus aureus* se ha descrito un proceso de variación de fase producido por la inserción reversible de un elemento de inserción (IS256) en el interior del operón (*icaADBC*) responsable de la síntesis del exopolisacárido del biofilm. El proceso de inserción de elemento parece ocurrir aleatoriamente en la población con una frecuencia de 10^{-6} y produce bacterias deficientes en la síntesis del

exopolisacárido y por tanto deficientes en la formación del biofilm. Esto permite a la bacteria mantener un pequeño porcentaje de la población incapaz de sintetizar el exopolisacárido y poder escapar del biofilm.³⁰

Como la inserción es un proceso reversible, el salto del IS desde el operónica provocará una nueva variación de fase. Otra alternativa descrita en *S. aureus* consiste en la obtención de variantes deficientes en la formación del biofilm debido a la eliminación de una isla de patogenicidad que contiene elementos esenciales para el proceso de formación del biofilm. En *Actinobacillusactinomi cetecomitans* se ha descrito una actividad enzimática, denominada dispersina que degradan de forma específica el exopolisacárido de la matriz del biofilm. La presencia en distintos genomas de hipotéticas proteínas (endoglucanasas), que podrían ser responsables de una función similar, sugiere que la degradación controlada del exopolisacárido puede representar un mecanismo controlado de liberación de bacterias del biofilm.²⁶

La formación de la biopelícula es un evento crítico en la patogénesis de la caries dental, el cual depende de la capacidad de ciertas bacterias para unirse a las superficies dentales y es el resultado de complejos procesos, de acuerdo a estudios experimentales (Nyvad, 1993), los que se pueden sintetizar en:

1. Formación de la película

Cuando se limpia una superficie dental, en unos cuantos minutos queda cubierta por una fina capa de glicoproteínas de origen salival a la que se le denomina película adquirida que es un depósito de proteínas provenientes de la saliva y del fluido crevicular, que se establece sobre la superficie del diente debido a un fenómeno de adsorción. La película varía entre 0,1 μm y 3 μm y presenta un alto contenido de grupos carboxilo y sulfatos, lo que incrementa la carga negativa del esmalte. (Marsh y Nyvad, 2003).²⁹

2. Fijación de células bacterianas (0-24 horas).²⁹

3. Crecimiento de las bacterias adheridas, lo que conduce a la formación de distintas microcolonias (4-24 horas).²⁹

La Placa Dental: un Tipo de Biopelícula

La placa dental se define como una comunidad microbiana aunque su composición y estructura varían en el tiempo adherida a la superficie del diente, de origen bacteriano

y salival. Se presenta en la boca en forma de una masa blanquesina de individuos sanos y enfermos, y es el agente etiológico de dos de las enfermedades orales más prevalentes: la caries dental y la enfermedad periodontal. La importancia de la biopelícula como factor causal, radica principalmente en la dificultad que implica para el clínico erradicar³².

Los métodos mecánicos utilizados de forma rutinaria han sido considerados desde siempre como la mejor manera para que los pacientes eliminen la placa, aunque, a menudo se dejen bacterias residuales sin eliminar. Ello es parcialmente debido a la utilización inadecuada del cepillado y del hilo dental. Incluso en pacientes bien entrenados suele haber problemas de higiene en áreas de difícil acceso y en sectores posteriores. Los métodos mecánicos para la eliminación de la placa requieren tiempo, motivación y destreza manual. Además, la motivación y el cumplimiento a menudo se mitigan con el tiempo. Por tanto, las técnicas mecánicas de higiene oral pueden no ser suficientes para controlar la placa y la gingivitis. Las limitaciones de las prácticas de higiene cotidianas sugieren que se necesita la aplicación de otras estrategias. Como utilizar colutorios dentales tenemos mejores posibilidades de disminuir en mayor medida el bioflm dental y el acumulo de placa³³

Posterior al cepillado dental con dentífricos es recomendado complementar su acción antiplaca con el uso de colutorios, estos deben ser atóxicos, no sensibilizantes, de fácil conservación y uso así como ofrecer sensación de frescor en la cavidad bucal. Al no realizar una adecuada y rigurosa higiene, los microorganismos que se encuentran en la placa dental provocarán la lesión cariosa pudiendo avanzar y producir la destrucción de la pieza dentaria.¹⁷

2.1.3 MEDICINA ALTERNATIVA

La medicina natural, a partir de las plantas y sus propiedades antimicrobianas, últimamente ha recibido mucha atención de los científicos, corroborando una serie de propiedades y compuestos como los polifenoles, de las plantas esto permiten combatir a los agentes patógenos como el *S. mutans* y *porphyromonas gingivalis*. "Las ventajas de uso de plantas son diversas: fácil acceso y manejo, bajo costo y sobre todo pocos efectos colaterales indeseables."²³

El Perú es conocido como el tercer país mega biodiverso del mundo, considerado por muchos científicos, porque posee una extraordinaria riqueza biológica, fuente natural de moléculas bioactivas. La diversidad vegetal peruana llega aproximadamente a unas 50 000 especies detectadas, mientras que todo el continente europeo posee 12 000 especies. Se debería aprovechar sosteniblemente nuestros recursos naturales, previamente validados científica y tecnológicamente con los respectivos estudios. Actualmente en el mundo moderno la población crece aceleradamente y con ella también las enfermedades como las infecciosas producidas por bacterias, virus, hongos, etc. A pesar que existen muchos antibacterianos para su control o tratamiento, el uso irracional de las personas viene generando resistencia microbiana y otras secuelas. La biodiversidad vegetal ofrece alternativas antibacterianas; algunas especies con excelentes resultados, debido a sus constituyentes químicos.^{33,34}

En nuestro medio encontramos una variada y cantidad de hierbas con miles de especies, las cuales hasta el día de hoy son empleadas por la medicina tradicional para aliviar o curar una serie de dolencias en el hombre. Las propiedades que se les atribuye a estas hierbas están relacionadas con los compuestos bioactivos que ellas presentan (ej. compuestos fenólicos). Las investigaciones sobre los compuesto bioactivo presente en las plantas son de suma importancia para poder encontrar la relación causa efecto que ellos producen en la prevención o cura de enfermedades.¹⁹

La mayoría de las plantas presentan efectos fisiológicos múltiples, debido a que poseen más de un principio activo, estos corresponden a compuestos químicos propios de la planta que están sometidos a una serie de variables físicas tales como: la humedad del suelo, condiciones de luz, temperatura y factores ambientales entre otros. La estandarización de estas variables así como el control de calidad aplicado a todas las fases de su elaboración y a los resultados clínicos observados en estudios han permitido que la Organización Mundial de la Salud (OMS) publique monografías sobre algunas de estas plantas medicinales con mayor respaldo científico. Se debe destacar que los fármacos producidos a base de plantas medicinales presentan una inmensa ventaja respecto a los tratamientos químicos. En las plantas, los principios activos siempre están biológicamente equilibrados por la presencia de sustancias complementarias que van a potenciarse biológicamente entre sí, no se acumula en el organismo y sus efectos indeseables están limitados sin embargo, a pesar de que han aumentado las

investigaciones y estudios científicos acerca de las plantas medicinales, aun no se conoce mucho de los principios activos a los que se deben sus extraordinarias propiedades²⁰

En el ámbito odontológico, es importante la fitoterapia dentro de programas preventivos y curativos para estimular la investigación con el fin de respaldar la actividad microbiana de distintos extractos de plantas para poder ayudar en el control de la placa bacteriana y por consiguiente en la disminución de la incidencia de caries dental y enfermedad periodontal¹⁹

2.1.4 INCA MUÑA (*CLINOPODIUM BOLIVIANUM* (BENTH.)

GENERALIDADES

La muña es un arbusto aromático perenne que crece en pendiente rocosas, pedregosas, extendiéndose crece en un clima con abundantes lluvias desde los 2 600 a 3 800 msnm. El origen geográfico de la muña se extiende desde Colombia, el norte de Venezuela a través de Brasil, Ecuador, Perú y Bolivia hasta el noroeste y centro de la Argentina, también se encuentra en regiones altas y áridas (Alkireet *al.*, 1994 y Schmidt-Lebuhn, 2007).

Se denomina en la lengua Quechua “muña”, y en la Aymara tiene dos nombres: “Coa” y “Huaycha”. Debido a sus características semejantes ala menta y orégano, los españoles la denominaban menta silvestre. Otros nombres vulgares con los que se le conoce a esta planta son: "muña negra", "polco silvestre", "coz", "muña-muña", "arash muña", "kon" "orcco-muña. La inca muña es un arbusto hirsuto de 1 metro de alto. Las hojas opuestas, cortamente pecioladas (1-1.5 mm.); láminas abovadas a elípticas, sub-obtusas, bordes enteros o aserrados, 1-2 cm de largo; flores blanquecinas La muña según el último estudio taxonómico del género en su totalidad fue conducido por Epling (1936), quién reconoció 12 especies enfatizando la dificultad de delimitarlos satisfactoriamente (Schmidt-Lebuhn, 2007). Brako y Zarucchi (1993) afirman que se conoce 8 especies de *Minthostachys* que crecen en el Perú y se distribuyen de la siguiente manera^{19,23}

- *Minthostachys andina* (Britton) Epling

Ubicación: Cusco.

- *Minthostachys glabrescens*(Bentham)Epling

Ubicación: Cajamarca, Junín, Apurímac y Cusco.

- *Minthostachyndoniana*(Briquet.)Epling

Ubicación: Ayacucho.

- *Minthostachysmollis*(Kunth) Griseb

Ubicación: Amazonas, Arequipa, Cajamarca, Cusco, Huancavelica, Junín, Lima, La Libertad y Piura.

- *Minthostachyssalicifolia*Epling

Ubicación: Ayacucho.

- *Minthostachyssetosa*(Briquet)Epling

Ubicación: Puno.

- *Minthostachysspicata*(Bentham) Epling

Ubicación: Ayacucho, Cusco, Huancavelica y Lima.

- *Minthostachys tomentosa* (Bentham) Epling

Ubicación: Amazonas, Cajamarca, Cusco, Huanuco, Junín, Lima y La Libertad.



Foto: fuente propia

Usos

La Inca Muña ha sido empleada milenariamente por nuestros antepasados, atribuyendo múltiples usos (Teodoro, 2003 y Zirena, 1945), Por vía externa es utilizada en forma de emplastos contra las neuralgias en fricciones, para ello la maceración de la planta se hace en alcohol.²³

La muña es conocida desde tiempos pre-incas por sus propiedades medicinales se emplea en infusión para curar cólicos de gases, diarreas, tiene acción carminativa, para curar heridas, tumores, úlceras, sarnas, pie de atleta y además para limpiar la flema del pecho (expectorante)comestibles Se sabe que sus hojas actúan como resolutivas de tumores y en mezclas con clara de huevo la emplearon en fracturas de huesos, su cocimiento se aplicaba como anti-inflamatorio y anti-reumático, su cocimiento con miel limpia la flema en el pecho y llagas del pulmón, riñones y vejiga. También se emplea en la agricultura, por sus propiedades insecticidas los productores de papa usan la Muña para matar gusanos que pueden contener los tubérculos al ser almacenados durante su almacenamiento.¹⁹

Tabla1. Usos de la muña se aprecia los múltiples usos que se le da a la muña en la medicina alternativa.

| Uso medicinal de la muña Dolencia | Parte utilizada | Modo de aplicación |
|--|------------------------|--|
| Dolor de estómago | Hojas | Mate de las hojas |
| Diarrea | Hojas | Mate de las hojas |
| Mal de aire | Hojas | Frotar hojas entre las manos y oler |
| Resfrió | Hojas | Bañarse con el agua de esta planta. |
| Inflamaciones | Ramas | Lavarse con el agua de esta. |
| Enterocolitis | Hojas | Mate, calentar las hojas y colocarlas en el vientre. |
| Indigestión | Hojas | Tomar el mate |
| Dolor de Dientes | Hojas | Masticar las hojas, hasta que calme el dolor. |

Tabla2. Características físico químicas de la Muña.

| Componente | Cantidad |
|---------------|------------|
| Energía | 299.00Kcal |
| Agua | 16.0 gr |
| Proteína | 3.2 gr |
| Grasa | 2.8 gr |
| Carbohidratos | 66.3 gr |
| Fibra | 9.4 gr |
| Cenizas | 11.7 gr |
| Calcio | 2237mg |
| Fosforo | 269mg |
| Hierro | 22.4mg |
| Tiamina | 0.35mg |
| Riboflavina | 1.81mg |
| Niacina | 6.85mg |
| Energia | 306mg |

Fuente: Tablas peruanas de composición de alimentos 1996

Se puede observar el alto contenido de calcio (Ca) que contiene la muña. También posee un alto contenido de fósforo (P), que fortalece la dureza de los huesos y dientes, además de intervenir en la coagulación. Evita la osteomalacia o reblandecimiento de los huesos. Su contenido de hierro (Fe) favorece la formación de glóbulos rojos y evita la anemia

Composición aproximada de la muña seca (100g comestible)

Moléculas presentes en (Muña)

Pulegona

Es un compuesto natural que aparece en muchos aceites esenciales, son altamente tóxicos a grandes proporciones debido a esto presentan efectos contra las plagas y parásitos, mientras que en la persona puede provocar alteración en el hígado y aborto espontáneo, además esta sustancia es usada en perfumería y como saborizante.³⁶

Mentona

Este también es un componente importante ya que junto a la pulegona representa un 75% del aceite, tiene un aroma a menta y no solo se usa en perfumería si no también empleado en problemas digestivos.³⁶

Carvacol

Se encuentra en diversas hierbas, pero en mayor porcentaje en el aceite esencial de *Origanum vulgare* (oregano) del 60-70%. El *carvacoles* capaz de desintegrar la membrana externa de las bacterias Gram negativas, además se emplea como complemento para sazonar (condimento).³⁶

Carvona

Es una sustancia conocida de la semilla de alcaravea (*Carum carvi*), presenta propiedades digestivas, además sirve como complemento para sazonar.³⁶

Mentol

Se utiliza para adormecer el dolor y para el dolor de garganta, siendo este un componente menor del aceite esencial *Menthastachys mollis*.³⁶

Linalol

Se le conoce como cilantro (*Coriandrum sativum*) de la familia Apiaceae, es un componente menores del aceite esencial *Menthastachys mollis*. Se utiliza como insecticida y en ocasiones como condimento.³⁶

Timol

Se encuentra en porcentaje menor en el aceite esencial de *Menthastachys Mollis* pero en mayor porcentaje en el aceite esencial del *Thymus serpyllum* (tomillo) más del 50% y su mecanismo de acción es similar al *carvacrol*, Utilizándose como antiséptico, también empleado contra el dolor de garganta y tos.³⁶

Grupo Químico con acción antimicrobiana aislados de plantas

Los compuestos fenólicos o polifenoles se encuentran distribuidos ampliamente en el reino vegetal, en plantas medicinales, especias, vegetales, frutas, granos y semillas, donde su presencia contribuye a las cualidades sensoriales como color, aroma, pardeamiento, amargor y la astringencia¹⁹

Tanto en los alimentos de origen vegetal como en los de origen animal existen sustancias antimicrobianas. En los primeros, se trata principalmente de los aceites esenciales, aunque también otros compuestos no volátiles como taninos, glucósidos y glicoproteínas ejercen una actividad antimicrobiana. Entre los compuestos fitoquímicos responsables de esta actividad destacan los derivados fenólicos: timol y carvacrol, los cuales se unen a los grupos amino e hidroxilamino de las proteínas de la membrana bacteriana, alterando su permeabilidad. Con algo menos de actividad se presentan los derivados alcohólicos y cetónicos: alcanfor, citral y linalol, entre otros.

Los fenoles son compuestos fitoquímicos simples y consisten en un anillo fenólico sustituido, además de ser el responsable del olor agradable en algunas plantas. Por tal motivo para comparar el efecto antimicrobiano de los aceites esenciales o cualquier otro agente, se emplea como patrón al fenol. El coeficiente fenólico de los aceites esenciales indica el grado de actividad de las distintas sustancias, con referencia a este compuesto.³⁷

Principio activo

Las flavonas son estructuras fenólicas que contienen un grupo carbonilo. Constituyen la familia más amplia de fenoles naturales. Su actividad frente a los microorganismos probablemente se debe a que forman complejos con las proteínas solubles y extracelulares y con las células de la pared bacteriana, de forma similar a las quinonas. Mención especial merecen las catequinas, las cuales ejercen actividad frente a *vidrio cholerae* y *streptococcus mutans*. *Shingellay* otros microorganismos³⁸

Los flavonoides

A continuación se describen algunos de los flavonoides comúnmente hallados en los alimentos.

Las flavanonas

El mayor origen de las flavanonas son las frutas y jugos cítricos. Estos compuestos también se encuentran en el garbanzo, comino, bayas de espino, regaliz y menta. La flavanona hesperidina puede ser encontrada en el comino y la menta; la narirutina y la naringenina glicósidos en las bayas de espino, el eriodictiol en limones y la liquoritigenina en algunas raíces. Las flavanonas contribuyen al sabor de los cítricos. La

naringenina encontrada en uvas, es usualmente amarga; la hesperidina encontrada en naranjas, es usualmente insípida (Peterson y Dwyer, 1998).²⁸

Las flavonas

Las flavonas son compuestos derivados de la benzo- γ -pirona; no son encontradas frecuentemente en frutas pero son halladas en granos y hierbas. Pueden contribuir al color del tejido de las plantas y participan en el gusto (Peterson y Dwyer, 1998). Las flavonas más comunes son la apigenina y luteolina. El perejil, romero y tomillo contienen flavonas. La apigenina y sus glicósidos son comúnmente hallados en cereales, grano, algunas hierbas y algunos vegetales. La luteolina se presenta en cereales y hierbas. En vegetales y en las hojas de los vegetales, los glicósidos de luteolina y apigenina han sido reportados.²⁸

2.1.5 COLUTORIOS ANTISÉPTICOS

Hasta la fecha dos enjuagues antisépticos han recibido la aceptación de la American Dental Association Council on Scientific Affairs basados en estudios clínicos Peridex es una solución al 0,12% de clorhexidina, un antiséptico bisbiguanídico, y Listerine. Los ingredientes activos de Listerine son cuatro aceites esenciales: timol al 0,064%, eucaliptol al 0,092%, salicilato de metilo al 0,060% y mentol al 0,042%. Sin embargo existen otras asociaciones dentales a nivel mundial que han aceptado colutorios que contienen clorhexidina y aceites esenciales que permite disminuir la formación de placa y la gingivitis, incluso en zonas de difícil acceso, teniendo excelentes características de seguridad y tolerabilidad. Además, de la clorhexidina y los aceites esenciales. Existe evidencia científica que los enjuagues con colutorios pueden desempeñar un papel clave y de un valor significativo como coadyuvantes de los métodos mecánicos para la prevención y tratamiento de las enfermedades presentes en boca. No obstante, en ningún caso pueden sustituir al control mecánico de la placa sino que actuarán como coadyuvante del mismo. Sin embargo para la mayoría de pacientes, los métodos mecánicos de higiene oral incluidos la higiene interdental, no controlan la placa de forma efectiva debido a problemas de cumplimiento y a la dificultad que entrañan algunas de las técnicas de higiene oral, en particular, a nivel interproximal. Los enjuagues bucales presentan la ventaja de que su actividad antimicrobiana puede alcanzar las zonas de difícil acceso^{15, 39}.

2.1.6 CLORHEXIDINA

La clorhexidina (CLHX) es una diguanidina o biguanida que representa uno de los desinfectantes mejor conocidos y de uso más extendido, por su eficacia y tolerancia. Su espectro antimicrobiano alcanza a bacterias grampositivas y gramnegativas, aunque algunas de éstas, como las cepas hospitalarias de *Pseudomonas aeruginosa* (bacilo), pueden ser resistentes. No es virucida. Impide la germinación de esporas, pero sólo las mata elevando la temperatura. En solución alcohólica aumenta su eficacia (ampliando su acción frente a ciertos virus, por ejemplo), aunque también su potencial irritativo. Permanece activa en presencia de jabón, sangre y materia orgánica, aunque su eficacia puede disminuir. Por ello hay que limpiar mecánicamente la superficie a desinfectar antes de usar el antiséptico. Su acción es rápida (efecto en dos minutos) y también duradera, por su adhesividad tisular. Las soluciones de clorhexidina al 0,5-1% en alcohol al 70% se utilizan como antiséptico cutáneo para el tratamiento de heridas y quemaduras y en la preparación del paciente y del cirujano antes de una intervención quirúrgica. La clorhexidina tiene un uso importante en odontología y estomatología. Está indicada en la inhibición farmacológica de la formación de la placa dental y periodontal supragingival⁴⁰

Mecanismo de Acción

La clorhexidina se une fuertemente a la membrana celular bacteriana, lo que a bajas concentraciones produce un aumento de la permeabilidad con filtración de los componentes intracelulares incluido el potasio (efecto bacteriostático). En concentraciones más altas produce la precipitación del citoplasma bacteriano y muerte celular (efecto bactericida) Greenstain y cols (1986). En boca se adsorbe rápidamente a las superficies de contacto, incluidos los dientes con película adquirida, proteínas salivales y a la hidroxiapatita. Los depósitos de clorhexidina se forman por la interacción reversible de la molécula de clorhexidina con grupos fosfato, sulfato y carboxilo de los tejidos blandos y duros (Sanz y cols 1989) La clorhexidina adsorbida se libera gradualmente en 8-12 horas en su forma activa (Rolla, Gjermo, Bonesvoll 1974). Después de 24 horas aún pueden recuperarse concentraciones bajas de clorhexidina, lo que evita la colonización bacteriana durante ese tiempo (Yankell 1979, Case 1977).

2.2 HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACION

Existe efectividad del colutorio de *Clinopodium bolivianum*(Inca Muña) frente a la placa bacteriana

CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Según la intervención del investigador

Experimental

Según la planificación de la toma de datos:

Prospectivo

Según el número de ocasiones en que se mide la variable

Longitudinal

Según la naturaleza de la información

Cuantitativa

3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA DE INVESTIGACION

POBLACIÓN

La población estuvo conformada por los 30 estudiantes de la Escuela Profesional de Odontología seleccionados bajo los criterios de inclusión y exclusión

MUESTRA

El recuento de unidades formadoras de colonia de *Streptococcus mutans*

3.2.1 CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de inclusión:

- Pacientes dispuestos a colaborar previo consentimiento informado
- Pacientes libres de focos infecciosos, se realizó el descarte a la inspección
- Pacientes libre de enfermedad periodontal

Criterios de exclusión:

- Pacientes que no estén dispuestos a colaborar previo consentimiento informado
- Pacientes que estén bajo tratamiento de ortodoncia
- Pacientes que no estén bajo tratamiento farmacológico

3.2.3 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

| VARIABLES | DEFINICIÓN | INDICADOR | CATEGORÍA | INSTRUMENTO |
|--|---|--|--|---|
| <p>Variable dependiente</p> <p>Colutorio de <i>Clinopodium bolivianum</i>(Inca Muña) muña</p> | <p>La "Muña" es una planta que en la sierra del Perú tiene múltiples usos⁷</p> | <p>colutorio <i>Clinopodium bolivianum</i>(Inca Muña) muña al 30 %</p> | <p>Recuento de bacterias antes y después de la aplicación de colutorio <i>Clinopodium bolivianum</i>(Inca Muña) muña al 30 %</p> | <p>Método bacteriológico</p> |
| <p>Variable independiente</p> <p>Placa bacteriana</p> | <p>La placa dental es un tipo de biopelícula que se define como una comunidad microbiana diversa que se encuentra en la superficie dental³</p> | <p>Unidades formadoras de colonia UFC/ml</p> | <p>Unidades formadoras de colonia UFC/ml</p> | <p>-Método bacteriológico - ficha de recolección de datos</p> |

3.3 TÉCNICA E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.3.1 PRUEBA PILOTO Y VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

Para la validación del instrumento se realizó una prueba piloto de los 3 grupos control, experimental y placebo se recolectó la muestra con un hisopo estéril para llevar al laboratorio y realizar el cultivo en agar tripticosa de soya seguidamente se recolectó la segunda muestra con aplicación de colutorios

Recursos y materiales**Instrumentos**

Documental: Fichas de recolección de datos

Materiales

- Instrumental básico: espejo, pinza y explorador
- Guantes de examinación
- Hisopos estériles
- Tubos de muestra para transporte
- tubo de ensayo

Materiales de vidrio de laboratorio

- Placas Petri
- Matraz Erlenmeyer de 250ml, 300ml y 500ml
- Tubos de ensayo

Instrumentos de laboratorio

Equipos de laboratorio

- Autoclave (horno a presión de calor húmedo)
- Estufa esterilizada de 5°C a 220°C
- Contador de colonias
- Contador de colonias.
- Cocina eléctrica
- Mechero Bunsen

- Reactivos

- Agar Triticasa de soya
- Agua destilada
- Muña
- Clorhexidina

3.3.2 METODOLOGÍA

Obtención de la Muña

Clinopodium bolivianum(Inca Muña) es un arbusto que crece en los márgenes y resguardos de los arroyos que descienden de los cerros así como en las quebradas altas de los cerros, fue recolectado en la región de Puno que se encuentra en el altiplano entre los 3,812 y 5,500 msnm en el distrito de Chucuito

Preparación de colutorio de Muña

Al preparar una infusión se extrajeron una gran cantidad de sustancias activas, por lo tanto se conservan al máximo sus propiedades. Se pesó 30 gr de muña seca, al cual se agrega 100ml de agua destilada en un en un vaso precipitado para la preparación del colutorio al 30 % se llevó a la hornilla eléctrica hasta que el agua hierva y alcance la temperatura de 100 °c por 2 minutos. Posteriormente fue almacenado en un frasco estéril

3.4 PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

Primera fase

- Se seleccionó 3 grupos de 10 estudiantes evaluando los criterios de inclusión y exclusión
- A los estudiantes se les explico en qué consistía la experimentación y firmaron el consentimiento informado
- Se procedió a tomar muestra en el grupo control, experimentación y placebo antes de la aplicación del colutorios
- Se recolectaron las muestras de la zona posterior de cavidad bucal a nivel de los molares con un hisopo, el medio de transporte fue un tubo de ensayo estéril debidamente rotulado para identificar cada muestra
- Luego se trasporto al laboratorio de la Facultad de Biología para la siembra en agar tripticasa de soya en las placas Petri con 3 réplicas por cada muestra de estudiante
- La preparación del medio de cultivo fue realizada en un matraxerlenmeyer se agrega 100ml agua destilada .para disolver la tripticasa de soya se lleva la suspensión a baño maría hasta que el medio se torne transparente, se cubre el erlenmeyer con un papel aluminio se esterilizo en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

- Después de sacar del autoclave se distribuyó en las diferentes placas Petri dejándoles enfriar a temperatura ambiente
- Luego se sembró mediante la técnica de estrías con los hisposos que se encontraban en los tubos de ensayo, Tapando rápidamente e imprimir a la placa movimientos circulares suaves en un sentido y otro Dejar solidificar, invertir la placa de manera que la tapa quede en la base, y llevar a estufa de cultivo a 30°C. El tiempo de incubación fue de 48 horas Transcurrido dicho periodo, se efectuó el conteo de Unidades Formadoras de Colonia

Segunda fase

- Proporcionar respectivamente a los 3 grupos de estudiantes los colutorio de clorhexidina al 0.12%, colutorio muña al 30%, colutorio de agua destilada para el enjuague bucal por un lapso de 2 minutos.
- Una vez realizado el enjuague bucal se procedió a recolectar la muestra de la misma zona donde se recolecto inicialmente con hisposos estériles y trasportarlos en los tubos de ensayo al laboratorio de la Facultad de Biología
- Se procedió a sembrar en las placas Petri que contiene medio de cultivo mediante la técnica de estrías con los hisposos que se encontraban en los tubos de ensayo, Se tapó rápidamente e imprimir a la placa movimientos circulares suaves en un sentido y otro dejar solidificar, invertir la placa de manera que la tapa quede en la base, y llevar a estufa de cultivo a 30°C. El tiempo de incubación fue de 48 horas Transcurrido dicho periodo, se efectuó el conteo de unidades formadoras de colonia
- mediante una ficha de recolección de datos se realizó la comparación de unidades formadores de colonia (UFC) en las muestras antes y después de la aplicación de los tres tipos de colutorio

3.5 PROCEDIMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

Los datos del recuento de unidades formadoras de colonias para *Streptococcus mutans* se expresaron a través de medidas de tendencia central y dispersión (promedio y desviación estándar, respectivamente) y analizados a través del análisis de varianza (ANVA) de los grupos de control, experimental y placebo antes y después de la aplicación del colutorio en un Diseño Completo al Azar, con 10 repeticiones por grupo y con tres grupos de colutorios como tratamiento, control (Clorhexidina), experimental (Muña) y placebo (Agua destilada), sujeto al siguiente modelo aditivo lineal fijo, bajo los principios de aleatoriedad, repetición y control local del error y los supuestos de independencia de las unidades experimentales, normalidad de errores y homogeneidad de varianzas (Kuehl, 2001). Para indicar la existencia de significancia estadística mediante el contraste de medias de los grupos experimentales del antes y después de la aplicación del colutorio se utilizó la prueba múltiple de Tukey ($\alpha = 0.05$).

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Donde:

Y: Variable respuesta

μ : Media general

T_i : Efecto del tratamiento, con tres tratamientos: Clorhexidina (T1); Muña(T2) y Agua destilada (T3).

E_{ij} : Error experimental

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 RESULTADOS

Tabla 1. Recuento de las UFC/ml para *Streptococos mutans* en los estudiantes en el grupo control, experimental y placebo antes de la aplicación del colutorio

| N° Pacientes | CLORHEXIDINA | MUÑA | AGUA DESTILADA |
|-----------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | CRECIMIENTO | CRECIMIENTO | CRECIMIENTO |
| | UFC/ml | UFC/ml | UFC/ml |
| P1 | 0.24 x 10 ⁴ | 0.41 x 10 ⁴ | 0.24 x 10 ⁴ |
| P2 | 1.59 x 10 ⁴ | 0.81 x 10 ⁴ | 0.19 x 10 ⁴ |
| P3 | 0.87 x 10 ⁴ | 1.13 x 10 ⁴ | 0.11 x 10 ⁴ |
| P4 | 0.72 x 10 ⁴ | 1.11 x 10 ⁴ | 0.71 x 10 ⁴ |
| P5 | 0.89 x 10 ⁴ | 0.81 x 10 ⁴ | 0.85 x 10 ⁴ |
| P6 | 0.49 x 10 ⁴ | 0.39 x 10 ⁴ | 1.15 x 10 ⁴ |
| P7 | 0.21 x 10 ⁴ | 1.35 x 10 ⁴ | 0.35 x 10 ⁴ |
| P8 | 0.44 x 10 ⁴ | 0.33 x 10 ⁴ | 1.42 x 10 ⁴ |
| P9 | 1.41 x 10 ⁴ | 0.72 x 10 ⁴ | 1.51 x 10 ⁴ |
| P10 | 0.57 x 10 ⁴ | 1.61 x 10 ⁴ | 1.56 x 10 ⁴ |
| X | 0.74 x 10⁴ | 0.87 x 10⁴ | 0.81 x 10⁴ |
| S | 0.46 x 10⁴ | 0.43 x 10⁴ | 0.57 x 10⁴ |
| CV,% | 61.99 | 49.6 | 71.16 |
| L.S | 1.59 x 10⁴ | 1.61 x 10⁴ | 1.56 x 10⁴ |
| L.I | 0.21 x 10⁴ | 0.33 x 10⁴ | 0.11 x 10⁴ |

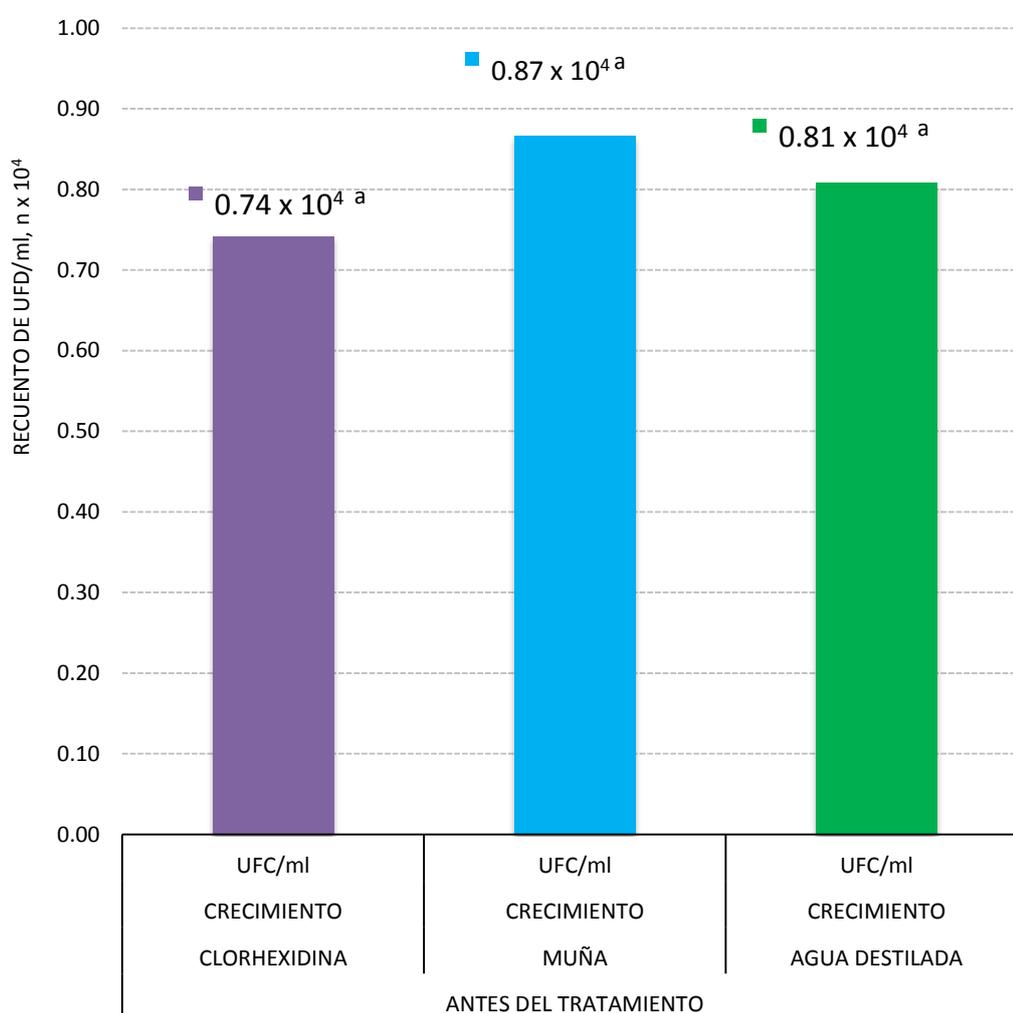
Fuente: Base de datos de la investigación

Interpretaciones

En la presente tabla se puede observar el recuento de las UFC/ml de *Streptococos mutans* en el grupo control, experimental y placebo antes de la aplicación del colutorio, el grupo de la clorhexidina mostro un promedio 0.74 x 10⁴ el más bajo con relación a los demás grupos respectivamente el L.S es de 1.59 x 10⁴ y L.I de 0.21 x 10⁴ presentado la CV,%61.99 esto debido a que la muestra fue tomada al azar. El grupo de muña se observa el promedio de 0.87 x 10⁴ el más alto con CV,% 49.6 estos datos fueron sometidos al análisis varianza no mostraron diferencia estadística debido a que se tomó

la muestra de manera aleatorizada . ($p > 0.05$).sin embargo se observar que el grupo de la muña presento un mayor desarrollo de UFC/ml en comparación con los demás grupos. Los promedios para el recuento de unidades formadoras de colonia UFC/ml de *Streptococcus mutans* fueron sometidos a análisis de varianza ANVA para los grupos clorhexidina , muña y agua destilada no mostraron diferencia significativa ($p > 0.05$)

Figura 1. Recuento de UFC/ml para *Streptococcus mutans* de los grupos control, experimental y placebo antes de la aplicación del colutorio



Fuente: Base de datos de la investigación

Tabla 2. Recuento de las UFC/ml para *Streptococcus mutans* en los estudiantes en el grupo control, experimental y placebo después de la aplicación del colutorio

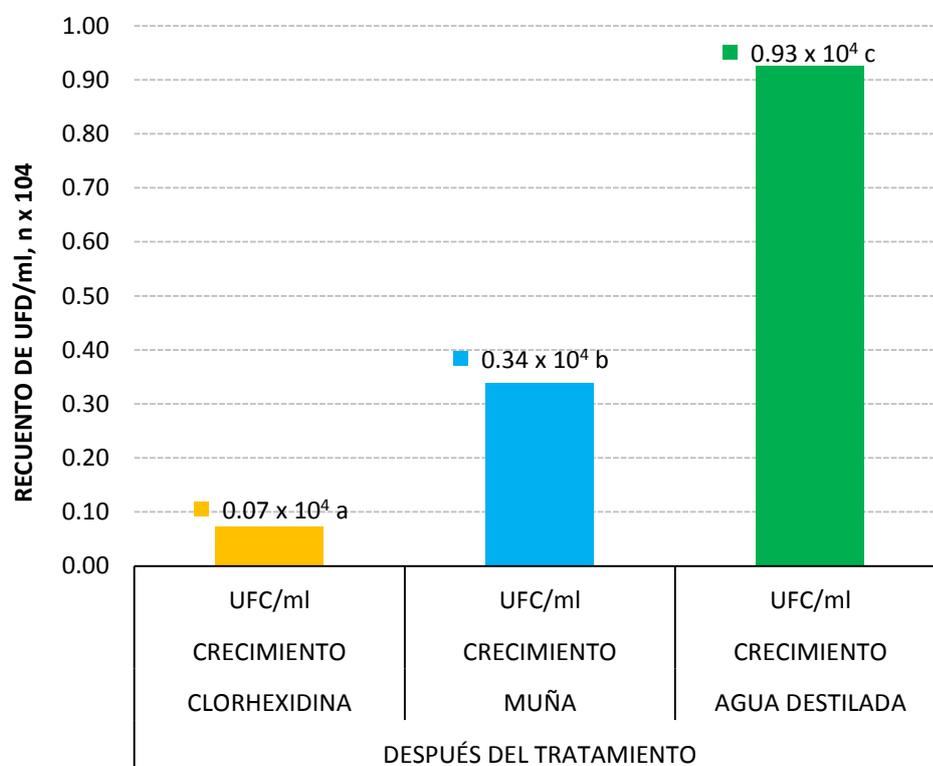
| N° Pacientes | CLORHEXIDINA | MUÑA | AGUA DESTILADA |
|-----------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | CRECIMIENTO | CRECIMIENTO | CRECIMIENTO |
| | UFC/ml | UFC/ml | UFC/ml |
| P1 | 0.03 x 10 ⁴ | 0.17 x 10 ⁴ | 1.29 x 10 ⁴ |
| P2 | 0.04 x 10 ⁴ | 0.31 x 10 ⁴ | 1.17 x 10 ⁴ |
| P3 | 0.13 x 10 ⁴ | 0.49 x 10 ⁴ | 1.20 x 10 ⁴ |
| P4 | 0.09 x 10 ⁴ | 0.48 x 10 ⁴ | 1.59 x 10 ⁴ |
| P5 | 0.04 x 10 ⁴ | 0.29 x 10 ⁴ | 1.05 x 10 ⁴ |
| P6 | 0.08 x 10 ⁴ | 0.16 x 10 ⁴ | 1.01 x 10 ⁴ |
| P7 | 0.03 x 10 ⁴ | 0.49 x 10 ⁴ | 0.47 x 10 ⁴ |
| P8 | 0.08 x 10 ⁴ | 0.13 x 10 ⁴ | 1.11 x 10 ⁴ |
| P9 | 0.12 x 10 ⁴ | 0.28 x 10 ⁴ | 0.53 x 10 ⁴ |
| P10 | 0.08 x 10 ⁴ | 0.59 x 10 ⁴ | 0.92 x 10 ⁴ |
| X | 0.07 x 10⁴ | 0.34 x 10⁴ | 1.03 x 10⁴ |
| S | 0.04 x 10⁴ | 0.16 x 10⁴ | 0.34 x 10⁴ |
| CV,% | 51.57 | 47.75 | 32.4 |
| L.S | 0.13 x 10⁴ | 0.59 x 10⁴ | 1.59 x 10⁴ |
| L.I | 0.03 x 10⁴ | 0.13 x 10⁴ | 0.12 x 10⁴ |

Fuente: Base de datos de la investigación

Interpretación:

Después de la aplicación de los colutorios el recuento de las UFC/ml de *Streptococcus mutans* se observa una disminución en el grupo la clorhexidina con un promedio de 0.07 x 10⁴ con límites L.S 0.13 x 10⁴ y L.I de 0.03 x 10⁴ mostrando que hubo efectividad así mismo el grupo de la muña presentó un promedio 0.34 x 10⁴ con L.S 0.59 x 10⁴ y L.I 0.13 x 10⁴ mostrando también efectividad en cambio en el grupo de agua destilada el promedio fue 1.03 x 10⁴ mostrando el crecimiento bacteriano. Los promedios para el recuento de unidades formadoras de colonia UFC/ml de *Streptococcus mutans* fueron sometidos a análisis de varianza ANVA para los grupos clorhexidina, muña y agua destilada mostraron diferencia significativa (p<0.05) para la prueba tukey

Figura 2. Recuento de UFC/ml para *Streptococcus mutans* de los grupos control, experimental y placebo después de la aplicación del colutorio



Fuente: Base de datos de la investigación

Tabla 3. Comparación del recuento de las UFC/ml de *Streptococcus mutans* en el grupo control, experimental y placebo antes y después de la aplicación del colutorio

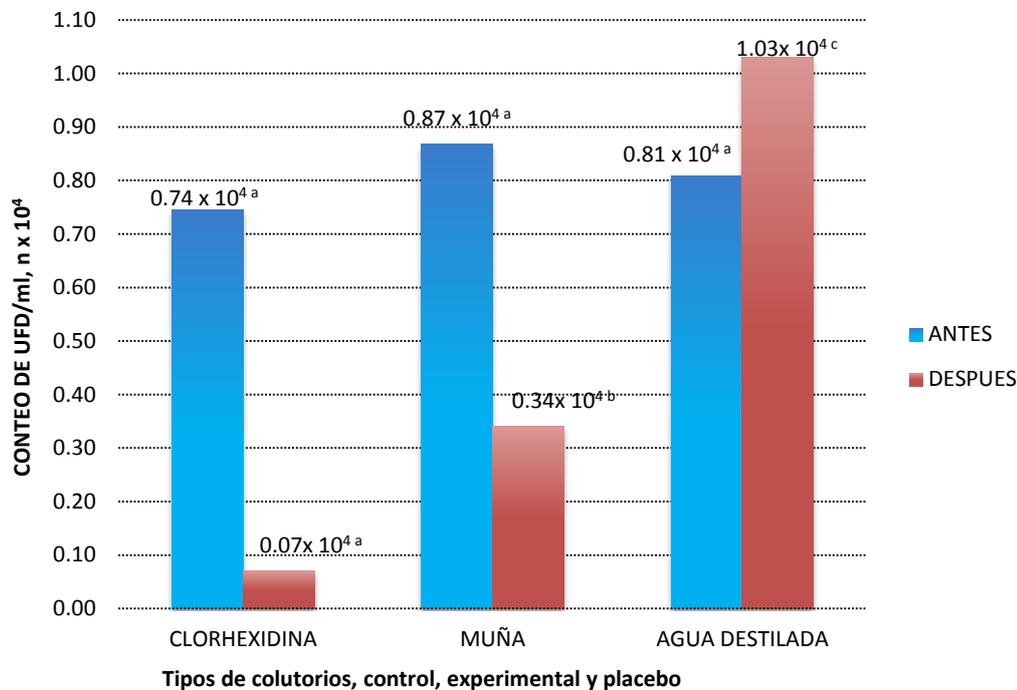
| N | CLORHEXIDINA | | MUÑA | | AGUA DESTILADA | |
|---------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | CRECIMIENTO | | CRECIMIENTO | | CRECIMIENTO | |
| | ANTES UFC/ml | DESPUES UFC/ml | ANTES UFC/ml | DESPUES UFC/ml | ANTES UFC/ml | DESPUES UFC/ml |
| P1 | 0.24 x 10 ⁴ | 0.03 x 10 ⁴ | 0.41 x 10 ⁴ | 0.17 x 10 ⁴ | 0.24 x 10 ⁴ | 1.29 x 10 ⁴ |
| P2 | 1.59 x 10 ⁴ | 0.04 x 10 ⁴ | 0.81 x 10 ⁴ | 0.31 x 10 ⁴ | 0.19 x 10 ⁴ | 1.17 x 10 ⁴ |
| P3 | 0.87 x 10 ⁴ | 0.13 x 10 ⁴ | 1.13 x 10 ⁴ | 0.49 x 10 ⁴ | 0.11 x 10 ⁴ | 1.20 x 10 ⁴ |
| P4 | 0.72 x 10 ⁴ | 0.09 x 10 ⁴ | 1.11 x 10 ⁴ | 0.48 x 10 ⁴ | 0.71 x 10 ⁴ | 1.59 x 10 ⁴ |
| P5 | 0.89 x 10 ⁴ | 0.04 x 10 ⁴ | 0.81 x 10 ⁴ | 0.29 x 10 ⁴ | 0.85 x 10 ⁴ | 1.05 x 10 ⁴ |
| P6 | 0.49 x 10 ⁴ | 0.08 x 10 ⁴ | 0.39 x 10 ⁴ | 0.16 x 10 ⁴ | 1.15 x 10 ⁴ | 1.01 x 10 ⁴ |
| P7 | 0.21 x 10 ⁴ | 0.03 x 10 ⁴ | 1.35 x 10 ⁴ | 0.49 x 10 ⁴ | 0.35 x 10 ⁴ | 0.47 x 10 ⁴ |
| P8 | 0.44 x 10 ⁴ | 0.08 x 10 ⁴ | 0.33 x 10 ⁴ | 0.13 x 10 ⁴ | 1.42 x 10 ⁴ | 1.11 x 10 ⁴ |
| P9 | 1.41 x 10 ⁴ | 0.12 x 10 ⁴ | 0.72 x 10 ⁴ | 0.28 x 10 ⁴ | 1.51 x 10 ⁴ | 0.53 x 10 ⁴ |
| P10 | 0.57 x 10 ⁴ | 0.08 x 10 ⁴ | 1.61 x 10 ⁴ | 0.59 x 10 ⁴ | 1.56 x 10 ⁴ | 0.92 x 10 ⁴ |
| Promedio | 0.74 x 10⁴ | 0.07 x 10⁴ | 0.87 x 10⁴ | 0.34 x 10⁴ | 0.81 x 10⁴ | 1.03 x 10⁴ |
| Desv. Est. | 0.46 x 10⁴ | 0.04 x 10⁴ | 0.43 x 10⁴ | 0.16 x 10⁴ | 0.57 x 10⁴ | 0.34 x 10⁴ |
| CV, % | 61.99 | 51.57 | 49.6 | 47.75 | 71.16 | 32.4 |

Fuente: Base de datos de la investigación

Interpretación

En la presente tabla se puede observar el grupo de la clorhexina presentó mayor disminución comparando el recuento de las UFC/ml de *Streptococcus mutans* con los promedios antes de la aplicación de 0.74×10^4 después de la aplicación, 0.07×10^4 de colutorio, refleja que presentó una efectividad. En la muña los promedios antes de la aplicación fueron 0.87×10^4 después de la aplicación del colutorio 0.34×10^4 también presentó disminución, en cambio en el placebo los promedios antes de la aplicación 0.81×10^4 después de la aplicación fueron 1.03×10^4 mostrando que no presentó efectividad, estos datos fueron sometidos al análisis de varianza ANOVA y mostraron diferencia estadística entre los grupos ($p < 0.05$)

Figura 3. Comparación del recuento de UFC/ml para *Streptococcus mutans* de los grupos control, experimental y placebo antes y después de la aplicación del colutorio



Fuente: Base de datos de la investigación

Tabla 4. Efectividad antibacteriana de los grupos control, experimental y placebo frente a los *Streptococos mutans*

| Table 4 N° de pacientes | CLORHEXIDINA 0.12% | | MUÑA 30% | | AGUA DESTILADA | |
|-------------------------------|--------------------|--------------|--------------|--------------|----------------|-------------|
| | Efectividad | Crecimiento | Efectividad | Crecimiento | Efectividad | Crecimiento |
| | % | % | % | % | % | % |
| P1 | 86.3% | 13.7% | 58.0% | 42.0% | 0% | 100% |
| P2 | 97.5% | 2.5% | 61.8% | 38.2% | 0% | 100% |
| P3 | 84.2% | 15.8% | 56.4% | 43.6% | 0% | 100% |
| P4 | 87.0% | 13.0% | 56.8% | 43.2% | 0% | 100% |
| P5 | 95.4% | 4.6% | 63.9% | 36.1% | 0% | 100% |
| P6 | 83.4% | 16.6% | 58.5% | 41.5% | 0% | 100% |
| P7 | 85.0% | 15.0% | 63.1% | 36.9% | 0% | 100% |
| P8 | 81.6% | 18.4% | 59.9% | 40.1% | 0% | 100% |
| P9 | 90.5% | 9.5% | 61.1% | 38.9% | 0% | 100% |
| P10 | 86.9% | 13.1% | 63.6% | 36.4% | 0% | 100% |
| Promedio | 87.8% | 12.2% | 60.3% | 39.7% | 0% | 100% |
| Desv. Est. | 5.2% | 5.2% | 2.8% | 2.8% | 0% | 0% |
| CV, % | 5.9% | 42.5% | 4.7% | 7.1% | 0% | 0% |
| L.S | 97.5% | 18.4% | 63.9% | 43.6% | 0% | 100% |
| L.I | 81.6% | 2.5% | 56.4% | 36.1% | 0% | 100% |

Fuente: Base de datos de la investigación

Interpretación:

Se puede observar que de los tres grupos el que presentó mayor efectividad antimicrobiana fue la Clorhexidina presentando un promedio de efectividad de 87.8% con L.S 97.5% y L.I 81.6% con crecimiento bacteriano de 12.2 %, seguido de la muña la efectividad fue 60.3% con L.S 63.9% L.I 56.4% y un crecimiento bacteriano de 39.7% y en el grupo de placebo no se encontró efectividad

4.2 Discusión

- El presente investigación se evaluó la efectividad inhibitoria del colutorio de *Clinopodium bolivianum*(Inca Muña) al 30 % frente a placa bacteriana de estudiantes de la Escuela Profesional de Odontología controlando con el grupo control y placebo. Estudios realizados por Yapuchura R. ²⁶donde analizaron la Inca Muña (*Clinopodium bolivianum*) y(*Minthostachys mollis*)para determinar diferencia entre ambas especies pertenecientes a la misma familia Lamiaceae. mediante la técnica espectofotometricas y se llegó a la conclusión que la Inca Muña (*Clinopodium bolivianum* presento mayor capacidad antioxidante con un valor de (1004.1 $\mu\text{mol TE/g}$ (b.s)) con respecto a la Muña (*Minthostachys mollis*) (868.0 $\mu\text{mol TE/g}$ (b.s)).Por esta razón se decidió usar el Inca Muña que tenemos en nuestro departamento y así provechar y revalorar los recursos que tenemos a nuestro alcance
- La investigación experimental realizada por Fernández K. (2009). determino la efectividad antibacteriana de la colutorio a base de *Minthostachys mollis* al 30% (muña) y *Camelia sinensis* al 15% (Té verde) frente a la flora salival mixta en pacientes Ortodónticos, se recolecto las 30 muestras de saliva, coincidiendo con la muestra que se usó en el presente investigación. Se Concluyó que el colutorio a base de *Minthostachys mollis* más té verde presento mayor efectividad antibacteriana siendo esta la solución de efectividad similar a la Clorhexidina y Vitis Ortodónticos .En nuestros resultados se llegó a la conclusión que el colutorio que preparamos en base a muña al 30%mostro una efectividad de60.31 % se puede evidenciar que hay una diferencia esto pudo pasar por que ellos usaron un colutorio de muña agregándole Té verde realizando sinergia obtuvieron mejores resultados casi similar a la Clorhexidina y Vitis Ortodónticos pero en el presente estudio solo se usó muña
- Así mismo Cruzado D. realizo un estudio in vitro para conocer la efectividad inhibitoria mínima del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña)sobre cepas estándar ATCC (american type culture collection)*streptococcus mutans* ATCC (25668) para lo cual se probaron en concentraciones de 25 %, 50 %

75%, 100% con el control positivo de amoxicilina. Se realizó conteo Unidades Formadoras de colonia obteniendo como resultado que a partir de la concentración de 50% mostrando efectividad presento 93 UFC. Pero se debe tener en consideración que la efectividad inhibitoria puede haber diferencia debido a factores como el tipo de cepa que usaron era estandarizada de laboratorio, tipo de muña Yapuchura R. encontró diferencia entre tipos de muña una tenía más capacidad antioxidante, recolección, humedad esto puede alterar algunos factores hay que tener en cuenta que los aceites esenciales tienen propiedades volátiles presentes, en cambio en el presente trabajo usamos una forma más natural de tratar de obtener los principios activos de la planta de manera que realizamos infusión de muña a partir de 30 % y obtuvimos mayor efecto antibacteriano

- Según Huari probó tres concentraciones diferentes para determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* frente a cepas de *streptococcus mutans* ATCC® (25175), la cual fue adquirida de laboratorio Genlab® para ello preparo concentraciones al 100 %, al 50 % y 25 % y el control positivo fue la amoxicilina se evaluó la efectividad antimicrobiana mediante la técnica de halos de inhibición se determinó que halos de inhibición para las diluciones del aceite esencial al 50 % cuyo promedio fue 7.06 mm que a partir de dicho porcentaje se consideró antibacteriano aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 50 % un 66.67 % de efectividad
- Entonces Huari y Cruzado concluyeron que los aceites esenciales de muña a partir de una concentración al 50 % mostraron acción antibacteriana a comparación con el presente investigación se usó una concentración al 30 % en infusión y mostro efectividad antimicrobiana del 60.3% frente a los *streptococcus mutans*. los factores que pudieron intervenir en los resultados del aceite de muña y la infusión podrían ser el tipo de muña que se usó, las cepas de *streptococcus mutans* que usaron eran estandarizadas ATCC de laboratorio, en cambio en la presente investigación se usó el *Clinopodium bolivianum* (Inca Muña) porque presento mayor capacidad antioxidante con respecto a la muña (*Minthostachys mollis*) Yapuchura.

- Con los resultados de esta investigación se espera que pueda servirán como bases para futuras investigaciones sobre la muña y sus principios activos, propiedades antibacterianas así podrá aprovechar los recursos que tenemos en la región *Clinopodium bolivianum*(Inca Muña), y el profesional también pueda recomendar al paciente.
- Al tener conocimiento de las propiedades se espera que la población puede usar y preparar un colutorio de base a muña por ser de fácil acceso y económico por ser un arbusto aromático ampliamente extendido en las zonas andinas.

CONCLUSIONES

PRIMERA: La comparación de Unidades Formadoras Colonia de *Streptococcus mutans* antes de la aplicación de los colutorios Clorhexidina , Muña y Agua destila mostraron promedios diferentes en cada grupo esto debido a que los grupos fueron seleccionados al azar estos datos iniciales sirvió para tener de referencia estadística se reportó en el grupo clorhexina (0.12%) presento la menor cantidad de(UFC/ml) y el grupo de muña presento la mayor cantidad de (UFC/ml).

SEGUNDA: El recuento de Unidades Formadoras de Colonia *Streptococcus mutans* después de la aplicación de los colutorios Clorhexidina, Muña y Agua destilada respectivamente se encontró disminución de (UFC/ml) en la Clorhexidina(0.12%) , Muña (30 %) y en el Agua destilada no se encontraron resultados favorables encontrando un crecimiento bacteriano.

TERCERA: En la comparación de Unidades Formadoras de Colonia antes y después de la aplicación de los colutorio se encontró diferencia la Clorhexina presento promedio de efecto antimicrobiano de 87.78 % y un crecimiento bacteriano 12.22%. En el caso de la Muña (30%) también se encontró un efecto antibacteriano de 60.31 % y un crecimiento bacteriano de 39.69 % con respecto al agua destilada no se encontró efectividad. Por lo tanto se concluye el colutorio de (*Clinopodium bolivianum*) muña (30%) si tiene efectividad antimicrobiana frente a *Streptococcus mutans*.

RECOMENDACIONES

PRIMERA: Realizar más estudios experimentales sobre la efectividad antimicrobiana y sus principios activos en colutorios de (*Clinopodium bolivianum*) muña y poder tener una base científica como respaldo para usarlo en diferentes presentaciones

SEGUNDA: Realizar estudios donde se pueda aplicar el colutorio en varios tiempos en los pacientes y poder investigar la sostenibilidad en el tiempo a largo plazo y ver la efectividad del colutorio

TERCERA: Se recomienda comparar efecto antibacteriano(*Clinopodium bolivianum*)muña en diferentes bacterias de interés estomatológico y probar la efectividad antimicrobiana de la planta

REFERENCIAS

1. Walker AW, Duncan SH, Louis P, Flint HJ. Phylogeny, culturing, and metagenomics of the human gut microbiota. *Trends Microbiol.* 2014;22(5):267-274.
2. Rosan B, Lamont RJ. Dental plaque formation. *Microbes Infect.* 2000;2:1599-1607.
3. Zaura E, Keijsers B, Huse SM, Crielaard W. Defining the healthy «core microbiome» of oral microbial communities. *BMC Microbiol.* 2009;9:259.
4. Sampaio-Maia B, Monteiro-Silva F. Acquisition and maturation of oral microbiome throughout childhood: An update. *Dent Res J.* 2014;11(3):291-301.
5. Calixto M. plantas medicinales usados en odontología. *akiru* 3(2) 2006
6. Fernández K. y García C. Efectividad antibacteriana in vitro de una solución a base de camelia sinensis y *minthostachys mollis* frente a flora salival mixta en pacientes ortodónticos. Lima-Perú Universidad Inca Garcilazo de La Vega. Facultad de Estomatología 2009
7. Ledesma, k Determinar la actividad antibacteriana "invitro" de *minthostachys mollis* frente a las bacterias orales de importancia estomatológica, Lima-Peru, Universidad Nacional de San Marcos, Facultad de Odontología, 2005
8. Módulo de promoción de la salud bucal / Ministerio de Salud. Dirección General de Promoción de la Salud. Dirección Ejecutiva de Educación para la Salud - Lima: Ministerio de Salud; 2013.
9. Acta Odontológica Venezolana [versión impresa ISSN 0001-6365]. Marzo 2009 [aproximadamente 10 pp.]. disponible http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0001-63652009000100026&scrip=sci_arttext
10. Sigmund S, Socransky Y, Anne D, Haffajee. Biofilms dentales: objetivos terapéuticos difíciles. *Periodontology 2000 (Ed Esp)*, Vol. 3, 2003, 12-55
11. Lasa1, J. L. del Pozo2, J. R. Penadés3, J. Leiva2 Biofilms bacterianos e infección. *An. Sist. Sanit. Navar.* 2005; 28 (2): 163-175.
12. Perez A. La Biopelícula: una nueva visión de la placa dental. *Rev Estomatologica Herediana* 2005;15(1): 82 – 85
13. Lang NP, Cumming BR, Loe H. Toothbrushing frequency as it relates to plaque development and gingival health. *Periodontol* 1973;44:396-405.

14. Frandsen A. Mechanical oral hygiene practices. In: Løe H, Kleinman DV. Dental plaque control measures and oral hygiene practices. Oxford- Washington, D.C.: IRL Press, 1986:93-116.
15. Ciancio SG. Use of mouthrinses for profesional indications. J ClinPeriodontol 1988; 15:520-3
16. Baker K. Mouthrinses in the prevention and treatment of periodontal disease. Current Opinion Periodontol 1993;1:89-96
17. BrackEgg A. diccionario enciclopédico de plantas útiles en el Peru cuzco programa de las Naciones Unidas para el desarrollo ; 1999
18. Maria rosario Calixto . Plantas utilizadas en odontología. USMP. Kiru 3 (2) 2006
19. Cadena E. “inhibición del *streptococcus mutans*: análisis in vitro de tres agentes antimicrobianos xilitol, triclosán y clorhexidina en dentífricos RCOE 2005;10(4):431-439.
20. PelaezP.Evaluación del efecto antimicrobiano del triclosan Clorexhidina sobre el *streptococcusmutans*(estudio in vitro. Universidad Central Del Ecuador. Quito – 2014
21. Huari Guerrero,Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de minthostachys mollis (muña) en streptococcus mutans. Lima – Perú Universidad Nacional Mayor de San Marcos 2014
22. Cruzado L. Concentración inhibitoria minima “in vitro” del minthostachys mollis (muña) frente al streptococcus mutans ATCC 35668. Trujillo peru Universidad nacional de Trujillo 2012
23. Yapuchura R. estudio de los componentes antioxidantes de las hojas de muña (minthostachys mollis (kunth) griseb.) e inca muña (clinopodium bolivianum (benth.) kuntze) Lima – Perú Universidad Nacional Agraria la Molina. 2010
24. Fernández k. García c. efectividad antibacteriana in vitro de una solución a base de camelia sinensis yminthostachys mollis frente a flora salival mixta en pacientes ortodónticos Lima-Perú Universidad Inca Garcilazo de la Vega 2009
25. Carhuapoma M., López S. actividad antibacteriana del aceite esencial de *minthostachys mollis*griseb “ruyaq muña” *Ciencia e Investigación*; 12(2): 83-89 *Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM 2009*
26. Moromi, H. Martinez' E. Anti bacterianos naturales orales: Estudios en la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos Odontología San Marquina ISSN: 1560-911 1

27. Ccallo S. Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial del *minthostachys mollis* (muña), frente a la actividad bacteriana de *streptococcus mutan* y *porphyromonas gingivalis*.” Universidad Nacional Del Altiplano Puno – Perú2013
28. Cuadrado D. Gómez J. Cariología: el manejo contemporáneo de la caries dental. Universidad Nacional Autónoma De México
29. Hinostroza G. Principios y procedimientos para el diagnóstico. upch 2007; pg 17-30
30. Figueroa G, M. Alonso Microorganismos presentes en las diversas etapas de la progresión de caries dental. Acta odontológica venezolana- volumen 47 N°1/2009
31. Duque de Estrada J, Pérez JA, Hidalgo I. Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar. Rev. Cub. Estomatología. 43(1);2006
32. Paola L, Overholser CD, Meiller TF, Minah GE, Niehaus C. Chemotherapeutic inhibition of supragingival dental plaque and gingivitis development. J ClinPeriodontol 1989;16:311-5.
33. Brack I. A, Heinz P. Perú Maravilloso. Edit. Epenza. Empresa Periodística Nacional SAC. Lima, 2002.
34. Zambrano, M. Suárez L. Biofilms bacterianos: sus implicaciones en salud y enfermedad Universitas Odontológica, Javeriana Colombia vol. 25, núm. 57, junio-diciembre, 2006, pp. 19-25
35. Bardales A, Yarlequé M, Rueda L. Estudio biológico y Fitoquímica del extracto alcohólico de *Minthostachys mollis*"Muña". I Congreso Internacional de Biología - XIII Congreso Nacional de Biología- VII Simposium de Educación en Ciencias Biológicas. Lima: Perú; 1999.
36. Azaña I. Efectividad Antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis*Griseb (muña) sobre bacterias prevalentes en patologías periapicales crónicas de origen endodóntico. [Tesis para optar el título de Cirujano Dentista] Universidad Nacional Mayor De San Marcos, Lima-Perú; 2010.
37. Campillo Vendrell, Ma. Sales. “MinthostachysSpp: Estudio Básico De La Planta Y Su Cultivo”. (Tesis). Universidad Nacional Agraria La Molina. 2003.
38. Yildirim, A., Mavi, A., Oktay, M., Kara, A.A., Algur, O.F., Bilaloglu, V. Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of *Tilia argentea* ex DC sage (*salvia trilobai*)and black tea (*cameliasinensis*) extracts J Agrifoogchem 2000; 48 5030-5034
39. Baca García P, Llodra Calvo JC, Junco Lafuente P. Antisépticos y desinfectantes en odontoestomatología. En: Liébana Ureña J, Bagán Sebastián JV, editores.

Terapéutica antimicrobiana en odontoestomatología. Madrid: IM&C, 1996; p. 175-87.

40. Enrile de Rojas FJ, Santos-Aleman A. Colutorios para el control de placa y gingivitis basados en la evidencia científica. RCOE 2005;10(4):445-452.

ANEXOS

“Año del Buen Servicio al Ciudadano”

Solicito : Ejecución de Proyecto de Investigación

Director de la Escuela Profesional de Odontología



Yo, Miriam Ccallohuanca Mamani ,
identificada con DNI 70675652 estudiante
de la escuela profesional de Odontología
de la UNA Puno ante Ud. Me presento y
expongo:

Que, teniendo que ejecutar mi proyecto de
investigación denominado Efecto del colutorio *Clinopodium bolivianum* (Inca Muña) en
relación con la formación de placa bacteriana en estudiantes de la Escuela Profesional
Odontológica UNA Puno 2017 para así optar el título de cirujano dentista y recorro a
Ud. para Autorización de ejecución del proyecto en los estudiantes de la escuela
profesional de odontología y así poder avanzar satisfactoriamente con la investigación

Por lo expuesto

Ruego a Ud. Acceder a mi solicitud por ser justo y legal

Puno, 28 de noviembre del 2017



“Año del Buen Servicio al Ciudadano”

Solicito: Autorización Para el uso del
laboratorio de Microbiología Para
Ejecución De Proyecto

DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL
DEL ALTIPLANO PUNO



Yo, Miriam Ccallohuanca Mamani, identificada con DNI 70675652 tesista de la escuela profesional de Odontología de la Universidad Nacional del Altiplano Puno ante Ud. Me presento con debido respeto para expresarle lo siguiente:

Que, ya contando con el acta de aprobación de mi proyecto de investigación denominado **Efecto del colutorio *Clinopodium bolivianum* (Inca Muña) en relación con la formación de placa bacteriana en estudiantes de la Escuela Profesional Odontológica UNA Puno 2017** para así optar el título de cirujano dentista y recorro a Ud. para Autorización del uso del laboratorio y así poder avanzar satisfactoriamente con la investigación

Por lo expuesto

Ruego a Ud. Acceder a mi solicitud por ser justo y legal

Puno, 12 de diciembre del 2017



Miriam Ccallohuanca Mamani

DNI 70675652



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO – PUNO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA
LABORATORIO DE ZOOLOGÍA APLICADA



CONSTANCIA

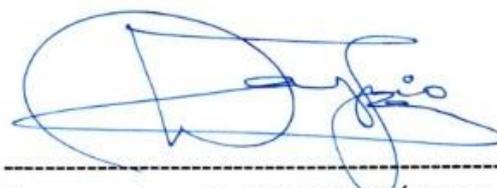
EL QUE SUSCRIBE JEFE DEL LABORATORIO ZOOLOGÍA APLICADA:
MICROBIOLOGÍA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA
UNA-PUNO

HACE CONSTAR:

Que la Bachiller MIRIAM CCALLOHUANCA MAMANI, egresada de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Nacional Del Altiplano, ha realizado su trabajo de Investigación titulada "EFECTO DEL COLUTORIO *Clinopodium Bolivianum* (INCA MUÑA) EN RELACIÓN CON LA FORMACION DE PLACA BACTERIANA EN ESTUDIANTES DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGIA UNA PUNO 2018 Realizado en el mes de noviembre del 2018.

Se emite la presente constancia a solicitud de la interesada para los fines que se estime por conveniente

Puno 22 de DICIEMBRE del 2018.



Dr. Buenaventura O. CARPIO VÁSQUEZ
JEFE DEL LABORATORIO DE ZOOLOGIA
APLICADA – F. CC. BB.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Estimado estudiante me encuentro realizando la ejecución de mi proyecto denominado **EFFECTO DEL COLUTORIO *CLINOPODIUM BOLIVIANUM* (INCA MUÑA) EN RELACIÓN CON LA FORMACIÓN DE PLACA BACTERIANA EN ESTUDIANTES DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLÓGIA UNA PUNO 2017** para lo cual requiero una muestra de placa dental que se tomara antes y después de aplicación del colutorio

Si mismo La participación es este estudio es estrictamente voluntaria. La información que se recoja será confidencial y no se usará para ningún otro propósito fuera de los de esta investigación. Si tiene alguna duda sobre este proyecto, puede hacer preguntas en cualquier momento durante su participación en él. Igualmente, puede retirarse del proyecto en cualquier momento sin que eso lo perjudique en ninguna forma

Por lo tanto yo
acepto participar voluntaria mente en la investigación

.....

Firma del participante

Ficha de registro

Nombre:

Registro de unidades formadores de colonia antes de la aplicación del colutorio de muña

Grupo A
(Colutorio de muña)

Grupo B
clorhexidina al 0.12%

Grupo C
agua destilada

| |
|-----|
| UFC |
|-----|

| |
|--|
| |
|--|

| |
|--|
| |
|--|

- Registro de unidades formadores de colonia después de la aplicación del colutorio de muña

Grupo A
(Colutorio de muña)

Grupo B
clorhexidina al 0.12%

Grupo C
agua destilada

| |
|-----|
| UFC |
|-----|

| |
|--|
| |
|--|

| |
|--|
| |
|--|

- Diferencia de comparación de unidades formadores de colonia

| |
|-----|
| UFC |
|-----|

| |
|--|
| |
|--|

| |
|--|
| |
|--|

Panel fotográfico



Figura 4. Muña fresca



Figura 5. Preparación de colutorio de muña



Figura 6. Esterilización de placas petri



Figura 7. Recolección de muestras

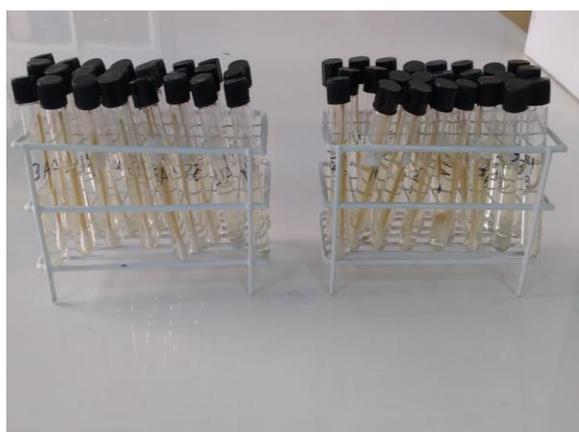


Figura 8. Muestras en el laboratorio



Figura 9. Preparación del medio de cultivo



Figura 10. Sembrado muestra en agar sangre



Figura 11. Medio de cultivo agar sangre



Figura 12. Sembrado de muestras



Figura 13. Recuento de colonias



Figura 14. Recuento de placas



Figura 15. Tendido placas

Análisis estadístico

Tabla 5. ANVA Para recuento de unidades formadoras de colonias para *Streptococcus mutans* después de la aplicación de los tres colutorios grupos, control, experimental y placebo.

| F de V | GL | SC | CM | F _c | F _t , 0.05 | Sig. | P Valor |
|-----------------------|----|------------------------|------------------------|----------------|--------------------------|------|---------------|
| Entre tratamientos | 2 | 4.93 x 10 ⁴ | 2.47 x 10 ⁴ | 52.79 | 3.35 | ** | 0.00000000047 |
| Error | 27 | 1.26 x 10 ⁴ | 0.05 x 10 ⁴ | | | | |
| Total | 29 | 6.19 x 10 ⁴ | | | | | |

Tabla 6. Análisis estadísticos para recuento de unidades formadoras de colonias para *Streptococcus mutans* después de la aplicación de los colutorios para los tres grupos (tratamiento).

| Estadísticos | n | $\bar{x} \pm$ | S | CV% | α 0.05 |
|----------------|----|------------------------|------------------------|-------|---------------|
| CLORHEXIDINA | 10 | 0.07 x 10 ⁴ | 0.04 x 10 ⁴ | 51.57 | a |
| MUÑA | 10 | 0.34 x 10 ⁴ | 0.16 x 10 ⁴ | 47.75 | b |
| AGUA DESTILADA | 10 | 1.03 x 10 ⁴ | 0.34 x 10 ⁴ | 32.40 | c |

Matriz de datos

Tabla 7. Recuento total de UFC/ml de *Streptococcus mutans* del antes y después de la aplicación del colutorio para la clorhexidina 0.12%, muña 30% y agua destilada por cada unidad experimental con tres replicas por paciente.

| N° de pacientes | CLORHEXIDINA 0.12% | | MUÑA 30% | | AGUA DESTILADA | |
|-----------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | UFC/ml | UFC/ml | UFC/ml | UFC/ml | UFC/ml | UFC/ml |
| P1 | 0.20 x 10 ⁴ | 0.01 x 10 ⁴ | 0.40 x 10 ⁴ | 0.16 x 10 ⁴ | 0.20 x 10 ⁴ | 1.36 x 10 ⁴ |
| | 0.16x 10 ⁴ | 0.04 x 10 ⁴ | 0.48 x 10 ⁴ | 0.20 x 10 ⁴ | 0.32 x 10 ⁴ | 1.28 x 10 ⁴ |
| | 0.36 x 10 ⁴ | 0.04 x 10 ⁴ | 0.36 x 10 ⁴ | 0.16 x 10 ⁴ | 0.20 x 10 ⁴ | 1.24 x 10 ⁴ |
| Promedio | 0.24 x 10 ⁴ | 0.03 x 10 ⁴ | 0.41 x 10 ⁴ | 0.17 x 10 ⁴ | 0.24 x 10 ⁴ | 1.29 x 10 ⁴ |
| Desv. Est. | 0.11 x 10 ⁴ | 0.02 x 10 ⁴ | 0.06 x 10 ⁴ | 0.02 x 10 ⁴ | 0.07 x 10 ⁴ | 0.06 x 10 ⁴ |
| CV, % | 44.10 | 57.74 | 14.78 | 13.32 | 28.87 | 4.72 |
| P2 | 1.6 x 10 ⁴ | 0.00 x 10 ⁴ | 0.72 x 10 ⁴ | 0.32 x 10 ⁴ | 0.28 x 10 ⁴ | 1.20 x 10 ⁴ |
| | 1.68 x 10 ⁴ | 0.08 x 10 ⁴ | 0.96 x 10 ⁴ | 0.32 x 10 ⁴ | 0.12 x 10 ⁴ | 1.16 x 10 ⁴ |
| | 1.48 x 10 ⁴ | 0.04 x 10 ⁴ | 0.76 x 10 ⁴ | 0.28 x 10 ⁴ | 0.16 x 10 ⁴ | 1.16 x 10 ⁴ |
| Promedio | 1.59 x 10 ⁴ | 0.04 x 10 ⁴ | 0.81 x 10 ⁴ | 0.31 x 10 ⁴ | 0.19 x 10 ⁴ | 1.17 x 10 ⁴ |
| Desv. Est. | 0.10 x 10 ⁴ | 0.04 x 10 ⁴ | 0.13 x 10 ⁴ | 0.02 x 10 ⁴ | 0.08 x 10 ⁴ | 0.02 x 10 ⁴ |
| CV, % | 6.34 | 100.00 | 15.81 | 7.53 | 44.61 | 1.97 |
| P3 | 0.96 x 10 ⁴ | 0.08 x 10 ⁴ | 1.00 x 10 ⁴ | 0.44 x 10 ⁴ | 0.04 x 10 ⁴ | 1.28 x 10 ⁴ |
| | 0.8 x 10 ⁴ | 0.20 x 10 ⁴ | 1.24 x 10 ⁴ | 0.52 x 10 ⁴ | 0.12 x 10 ⁴ | 1.20 x 10 ⁴ |
| | 0.86 x 10 ⁴ | 0.12 x 10 ⁴ | 1.16 x 10 ⁴ | 0.52 x 10 ⁴ | 0.16 x 10 ⁴ | 1.12 x 10 ⁴ |
| Promedio | 0.87 x 10 ⁴ | 0.13 x 10 ⁴ | 1.13 x 10 ⁴ | 0.49 x 10 ⁴ | 0.11 x 10 ⁴ | 1.20 x 10 ⁴ |
| Desv. Est. | 0.08 x 10 ⁴ | 0.06 x 10 ⁴ | 0.12 x 10 ⁴ | 0.05 x 10 ⁴ | 0.06 x 10 ⁴ | 0.08 x 10 ⁴ |
| CV, % | 9.26 | 45.83 | 10.78 | 9.36 | 57.28 | 6.67 |
| P4 | 0.64 x 10 ⁴ | 0.12 x 10 ⁴ | 1.20 x 10 ⁴ | 0.56 x 10 ⁴ | 0.56 x 10 ⁴ | 1.68 x 10 ⁴ |
| | 0.84 x 10 ⁴ | 0.12 x 10 ⁴ | 1.12 x 10 ⁴ | 0.48 x 10 ⁴ | 1.12 x 10 ⁴ | 1.72 x 10 ⁴ |
| | 0.68 x 10 ⁴ | 0.04 x 10 ⁴ | 1.00 x 10 ⁴ | 0.40 x 10 ⁴ | 0.44 x 10 ⁴ | 1.36 x 10 ⁴ |
| Promedio | 0.72 x 10 ⁴ | 0.09 x 10 ⁴ | 1.11 x 10 ⁴ | 0.48 x 10 ⁴ | 0.71 x 10 ⁴ | 1.59 x 10 ⁴ |
| Desv. Est. | 0.11 x 10 ⁴ | 0.05 x 10 ⁴ | 0.10 x 10 ⁴ | 0.08 x 10 ⁴ | 0.36 x 10 ⁴ | 0.20 x 10 ⁴ |
| CV, % | 14.70 | 49.49 | 9.10 | 16.67 | 51.36 | 12.44 |
| P5 | 0.92 x 10 ⁴ | 0.08 x 10 ⁴ | 0.80 x 10 ⁴ | 0.28 x 10 ⁴ | 0.92 x 10 ⁴ | 1.12 x 10 ⁴ |
| | 0.96 x 10 ⁴ | 0.00 x 10 ⁴ | 0.76 x 10 ⁴ | 0.28 x 10 ⁴ | 0.84 x 10 ⁴ | 1.32 x 10 ⁴ |
| | 0.80 x 10 ⁴ | 0.04 x 10 ⁴ | 0.88 x 10 ⁴ | 0.32 x 10 ⁴ | 0.80 x 10 ⁴ | 0.72 x 10 ⁴ |
| Promedio | 0.89 x 10 ⁴ | 0.04 x 10 ⁴ | 0.81 x 10 ⁴ | 0.29 x 10 ⁴ | 0.85 x 10 ⁴ | 1.05 x 10 ⁴ |
| Desv. Est. | 0.08 x 10 ⁴ | 0.04 x 10 ⁴ | 0.06 x 10 ⁴ | 0.02 x 10 ⁴ | 0.06 x 10 ⁴ | 0.31 x 10 ⁴ |
| CV, % | 9.32 | 100.00 | 7.51 | 7.87 | 7.16 | 29.00 |
| P6 | 0.36 x 10 ⁴ | 0.08 x 10 ⁴ | 0.28 x 10 ⁴ | 0.12 x 10 ⁴ | 1.08 x 10 ⁴ | 1.00 x 10 ⁴ |
| | 0.60 x 10 ⁴ | 0.12 x 10 ⁴ | 0.40 x 10 ⁴ | 0.16 x 10 ⁴ | 1.20 x 10 ⁴ | 1.12 x 10 ⁴ |
| | 0.52 x 10 ⁴ | 0.04 x 10 ⁴ | 0.48 x 10 ⁴ | 0.20 x 10 ⁴ | 1.16 x 10 ⁴ | 0.92 x 10 ⁴ |
| Promedio | 0.49 x 10 ⁴ | 0.08 x 10 ⁴ | 0.39 x 10 ⁴ | 0.16 x 10 ⁴ | 1.15 x 10 ⁴ | 1.01 x 10 ⁴ |

| | | | | | | |
|------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Desv. Est. | 0.12×10^4 | 0.04×10^4 | 0.10×10^4 | 0.04×10^4 | 0.06×10^4 | 0.10×10^4 |
| CV, % | 24.77 | 50.00 | 26.03 | 25.00 | 5.33 | 9.93 |
| P7 | 0.28×10^4 | 0×10^4 | 1.32×10^4 | 0.48×10^4 | 0.32×10^4 | 0.40×10^4 |
| | 0.16×10^4 | 0.04×10^4 | 1.24×10^4 | 0.52×10^4 | 0.28×10^4 | 0.52×10^4 |
| | 0.20×10^4 | 0.04×10^4 | 1.48×10^4 | 0.48×10^4 | 0.44×10^4 | 0.48×10^4 |
| Promedio | 0.21×10^4 | 0.03×10^4 | 1.35×10^4 | 0.49×10^4 | 0.35×10^4 | 0.47×10^4 |
| Desv. Est. | 0.06×10^4 | 0.02×10^4 | 0.12×10^4 | 0.02×10^4 | 0.08×10^4 | 0.06×10^4 |
| CV, % | 28.64 | 86.60 | 9.07 | 4.68 | 24.02 | 13.09 |
| P8 | 0.32×10^4 | 0.05×10^4 | 0.32×10^4 | 0.12×10^4 | 1.12×10^4 | 1.04×10^4 |
| | 0.44×10^4 | 0.08×10^4 | 0.40×10^4 | 0.16×10^4 | 1.19×10^4 | 1.12×10^4 |
| | 0.56×10^4 | 0.12×10^4 | 0.28×10^4 | 0.12×10^4 | 1.96×10^4 | 1.16×10^4 |
| Promedio | 0.44×10^4 | 0.08×10^4 | 0.33×10^4 | 0.13×10^4 | 1.42×10^4 | 1.11×10^4 |
| Desv. Est. | 0.12×10^4 | 0.04×10^4 | 0.06×10^4 | 0.02×10^4 | 0.47×10^4 | 0.06×10^4 |
| CV, % | 27.27 | 42.14 | 18.33 | 17.32 | 32.75 | 5.52 |
| P9 | 1.20×10^4 | 0.20×10^4 | 0.8×10^4 | 0.32×10^4 | 1.48×10^4 | 0.44×10^4 |
| | 1.24×10^4 | 0.12×10^4 | 0.76×10^4 | 0.28×10^4 | 1.64×10^4 | 0.60×10^4 |
| | 1.8×10^4 | 0.04×10^4 | 0.60×10^4 | 0.24×10^4 | 1.40×10^4 | 0.56×10^4 |
| Promedio | 1.41×10^4 | 0.12×10^4 | 0.72×10^4 | 0.28×10^4 | 1.51×10^4 | 0.53×10^4 |
| Desv. Est. | 0.34×10^4 | 0.08×10^4 | 0.11×10^4 | 0.04×10^4 | 0.12×10^4 | 0.08×10^4 |
| CV, % | 23.74 | 66.67 | 14.70 | 14.29 | 8.11 | 15.61 |
| P10 | 0.68×10^4 | 0.16×10^4 | 1.68×10^4 | 0.60×10^4 | 1.04×10^4 | 0.88×10^4 |
| | 0.44×10^4 | 0.04×10^4 | 1.56×10^4 | 0.56×10^4 | 1.80×10^4 | 0.84×10^4 |
| | 0.6×10^4 | 0.04×10^4 | 1.60×10^4 | 0.60×10^4 | 1.84×10^4 | 1.04×10^4 |
| Promedio | 0.57×10^4 | 0.08×10^4 | 1.61×10^4 | 0.59×10^4 | 1.56×10^4 | 0.92×10^4 |
| Desv. Est. | 0.12×10^4 | 0.07×10^4 | 0.06×10^4 | 0.02×10^4 | 0.45×10^4 | 0.11×10^4 |
| CV, % | 21.31 | 86.60 | 3.79 | 3.94 | 28.90 | 11.50 |

Tabla 8. Recuento de UFC/ml de *Streptococcus mutans* de antes y después de la aplicación del colutorio de clorhexidina al 0.12% y su efectividad inhibitoria.

| N° Repetición | CLORHEXIDINA 0.12% | | | | CRECIMIENT O % |
|------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|-------|----------------------|
| | ANTES | DESPUES | Efectividad Inhibitoria | | |
| | UFC/ml | UFC/ml | UFC/ml | % | |
| P1 | 0.24 x 10 ⁴ | 0.03 x 10 ⁴ | 0.21 x 10 ⁴ | 86.30 | 13.70 |
| P2 | 1.59 x 10 ⁴ | 0.04 x 10 ⁴ | 1.55 x 10 ⁴ | 97.51 | 2.49 |
| P3 | 0.87 x 10 ⁴ | 0.13 x 10 ⁴ | 0.74 x 10 ⁴ | 84.24 | 15.76 |
| P4 | 0.72 x 10 ⁴ | 0.09 x 10 ⁴ | 0.63 x 10 ⁴ | 87.03 | 12.97 |
| P5 | 0.89 x 10 ⁴ | 0.04 x 10 ⁴ | 0.85 x 10 ⁴ | 95.43 | 4.57 |
| P6 | 0.49 x 10 ⁴ | 0.08 x 10 ⁴ | 0.41 x 10 ⁴ | 83.36 | 16.64 |
| P7 | 0.21 x 10 ⁴ | 0.03 x 10 ⁴ | 0.19 x 10 ⁴ | 85.00 | 15.00 |
| P8 | 0.44 x 10 ⁴ | 0.08 x 10 ⁴ | 0.36 x 10 ⁴ | 81.59 | 18.41 |
| P9 | 1.41 x 10 ⁴ | 0.12 x 10 ⁴ | 1.29 x 10 ⁴ | 90.48 | 9.52 |
| P10 | 0.57 x 10 ⁴ | 0.08 x 10 ⁴ | 0.49 x 10 ⁴ | 86.90 | 13.10 |
| Promedio | 0.74 x 10 ⁴ | 0.07 x 10 ⁴ | 0.67 x 10 ⁴ | 87.78 | 12.22 |
| Desv. Est. | 0.46 x 10 ⁴ | 0.04 x 10 ⁴ | 0.45 x 10 ⁴ | 5.19 | 5.19 |
| CV, % | 61.99 | 51.57 | 67.25 | 0.06 | 0.42 |

Tabla 9. Recuento de UFC/ml de *Streptococcus mutans* de antes y después de la aplicación del colutorio de muña al 30% y su efectividad inhibitoria.

| N° Repetición | MUÑA 30% | | | | CRECIMIENT O % |
|------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|-------|----------------------|
| | ANTES | DESPUES | Efectividad Inhibitoria | | |
| | UFC/ml | UFC/ml | UFC/ml | % | |
| P1 | 0.41 x 10 ⁴ | 0.17 x 10 ⁴ | 0.24 x 10 ⁴ | 57.96 | 42.04 |
| P2 | 0.81 x 10 ⁴ | 0.31 x 10 ⁴ | 0.51 x 10 ⁴ | 61.79 | 38.21 |
| P3 | 1.13 x 10 ⁴ | 0.49 x 10 ⁴ | 0.64 x 10 ⁴ | 56.41 | 43.59 |
| P4 | 1.11 x 10 ⁴ | 0.48 x 10 ⁴ | 0.63 x 10 ⁴ | 56.83 | 43.17 |
| P5 | 0.81 x 10 ⁴ | 0.29 x 10 ⁴ | 0.52 x 10 ⁴ | 63.93 | 36.07 |
| P6 | 0.39 x 10 ⁴ | 0.16 x 10 ⁴ | 0.23 x 10 ⁴ | 58.49 | 41.51 |
| P7 | 1.35 x 10 ⁴ | 0.49 x 10 ⁴ | 0.85 x 10 ⁴ | 63.09 | 36.91 |
| P8 | 0.33 x 10 ⁴ | 0.13 x 10 ⁴ | 0.20 x 10 ⁴ | 59.88 | 40.12 |
| P9 | 0.72 x 10 ⁴ | 0.28 x 10 ⁴ | 0.44 x 10 ⁴ | 61.05 | 38.95 |
| P10 | 1.61 x 10 ⁴ | 0.59 x 10 ⁴ | 1.03 x 10 ⁴ | 63.63 | 36.37 |
| Promedio | 0.87 x 10 ⁴ | 0.34 x 10 ⁴ | 0.53 x 10 ⁴ | 60.31 | 39.69 |
| Desv. Est. | 0.43 x 10 ⁴ | 0.16 x 10 ⁴ | 0.27 x 10 ⁴ | 2.81 | 2.81 |
| CV, % | 49.54 | 47.75 | 51.54 | 0.05 | 0.07 |

Tabla 10. Recuento de UFC/ml de *Streptococcus mutans* de antes y después de la aplicación del colutorio de agua destilada y su efectividad inhibitoria.

| N° Repetición | AGUA DESTILADA | | | | CRECIMIENT O % |
|------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|----------|----------------------|
| | ANTES | DESPUES | Efectividad Inhibitoria | | |
| | UFC/ml | UFC/ml | UFC/ml | % | |
| P1 | 0.24 x 10 ⁴ | 1.29 x 10 ⁴ | -1.05 x 10 ⁴ | -466.67 | 566.67 |
| P2 | 0.19 x 10 ⁴ | 1.17 x 10 ⁴ | -0.99 x 10 ⁴ | -606.75 | 706.75 |
| P3 | 0.11 x 10 ⁴ | 1.20 x 10 ⁴ | -1.09 x 10 ⁴ | -1533.33 | 1633.33 |
| P4 | 0.71 x 10 ⁴ | 1.59 x 10 ⁴ | -0.88 x 10 ⁴ | -154.22 | 254.22 |
| P5 | 0.85 x 10 ⁴ | 1.05 x 10 ⁴ | -0.20 x 10 ⁴ | -22.96 | 122.96 |
| P6 | 1.15 x 10 ⁴ | 1.01 x 10 ⁴ | 0.13 x 10 ⁴ | 11.59 | 88.41 |
| P7 | 0.35 x 10 ⁴ | 0.47 x 10 ⁴ | -0.12 x 10 ⁴ | -39.94 | 139.94 |
| P8 | 1.42 x 10 ⁴ | 1.11 x 10 ⁴ | 0.32 x 10 ⁴ | 17.95 | 82.05 |
| P9 | 1.51 x 10 ⁴ | 0.53 x 10 ⁴ | 0.97 x 10 ⁴ | 64.56 | 35.44 |
| P10 | 1.56 x 10 ⁴ | 0.92 x 10 ⁴ | 0.64 x 10 ⁴ | 37.40 | 62.60 |
| Promedio | 0.81 x 10 ⁴ | 1.03 x 10 ⁴ | -0.23 x 10 ⁴ | -269.24 | 369.24 |
| Desv. Est. | 0.57 x 10 ⁴ | 0.34 x 10 ⁴ | 0.75 x 10 ⁴ | 499.34 | 499.34 |
| CV, % | 71.16 | 32.40 | -330.54 | -1.85 | 1.35 |