



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

EFECTO ANTIBACTERIAL DEL ENJUAGUE BUCAL A BASE DE EXTRACTO
ETANÓLICO CON MATRICARIA CHAMOMILLA FRENTE AL STREPTOCOCCUS
MUTANS SPP (ATCC 25175): IN VITRO

Línea de investigación: Salud pública

Tesis para optar por el Título Profesional de Cirujano Dentista

Autora

Medina Ulloa, Gabriela Alexandra

Asesora

Mejía Ticona, Lourdes Alicia

ORCID: 0000-0001-8534-6454

Jurado

Paucar Rodríguez De Granados, Elizabeth

Chacón Gonzales, Doris Maura

Chuna Espinoza, Jorge Dante

Lima - Perú

2025



RECONOCIMIENTO - NO COMERCIAL - SIN OBRA DERIVADA



EFECTO ANTIBACTERIAL DEL ENJUAGUE BUCAL A BASE DE EXTRACTO ETANÓLICO CON MATRICARIA CHAMOMILLA FRENTE AL STREPTOCOCCUS MUTANS SPP (ATCC 25175): IN VITRO

INFORME DE ORIGINALIDAD	
27% 25% 3% 9% INDICE DE SIMILITUD FUENTES DE INTERNET PUBLICACIONES TRABAJOS DEL ESTUDIANTE	-
FUENTES PRIMARIAS	
repositorio.unfv.edu.pe Fuente de Internet	4%
Submitted to Universidad Nacional Federico Villarreal Trabajo del estudiante	3%
repositorio.uwiener.edu.pe Fuente de Internet	2%
repositorio.upao.edu.pe Fuente de Internet	2%
repositorio.uigv.edu.pe Fuente de Internet	1%
hdl.handle.net Fuente de Internet	1%
7 repositorio.unap.edu.pe Fuente de Internet	1%
8 intra.uigv.edu.pe Fuente de Internet	1%
g dspace.unitru.edu.pe Fuente de Internet	1%
10 www.coursehero.com Fuente de Internet	1%





FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

EFECTO ANTIBACTERIAL DEL ENJUAGUE BUCAL A BASE DE EXTRACTO ETANÓLICO CON MATRICARIA CHAMOMILLA FRENTE AL STREPTOCOCCUS $MUTANS\ SPP\ (ATCC\ 25175)$: IN VITRO

Línea de investigación:

Salud Pública

Tesis para optar por el Título Profesional de Cirujano Dentista

Autora

Medina Ulloa, Gabriela Alexandra

Asesora

Mejía Ticona, Lourdes Alicia

ORCID: 0000-0001-8534-6454

Jurado

Paucar Rodríguez De Granados, Elizabeth
Chacón Gonzales, Doris Maura
Chuna Espinoza, Jorge Dante

Lima - Perú

2025

DEDICATORIA

A la memoria de mi amado padre, Juan, quien en vida fue mi mayor ejemplo de fortaleza, dedicación y esfuerzo. Esta tesis la dedico con profundo amor y gratitud, porque siempre confiaste en mí, alentándome incluso en medio de tu enfermedad y mostrándome con tu ejemplo el valor de la perseverancia.

Tus últimos deseos fueron que culminara mis estudios y alcanzara mis metas profesionales, y hoy este logro también es tuyo. Aunque tu ausencia ha dejado un vacío inmenso, tu legado vive en cada decisión que tomo y tu recuerdo será siempre mi guía e inspiración constante.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por la fortaleza y sabiduría para culminar mi tesis, a mi familia por ser mi mayor apoyo y motivación, y a la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Federico Villarreal, mi alma máter, por brindarme la oportunidad de formarme profesionalmente. Extiendo mi gratitud a mis docentes por sus enseñanzas y, de manera especial, a mi asesora, Dra. Lourdes Alicia Mejía Ticona, por su orientación y dedicación en este proceso.

ÍNDICE

RESUMEN	ix
ABSTRACT	X
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Descripción y formulación del problema	2
1.2. Antecedentes.	3
1.3. Objetivos.	11
1.3.1. Objetivo general	11
1.3.2. Objetivos específicos	11
1.4. Justificación	12
1.5. Hipótesis	12
II. MARCO TEÓRICO	13
2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación	13
2.1.1. Caries dental	13
2.1.2. Fitoterapia en odontología	13
2.1.3. Matricaria chamomilla	14
2.1.4. Enjuagues bucales	19
2.1.5. Clorhexidina	22
2.1.6. Streptococcus mutans	23
2.1.7. Susceptibilidad antimicrobiana	24
III. MÉTODO	26
3.1. Tipo de investigación	26
3.2. Ámbito temporal y espacial	26
3.3. Variables	26
3.4. Población y muestra	28

3.5. Instrumentos	29
3.6. Procedimientos.	32
3.6.1. Recolección de la muestra	32
3.6.2. Elaboración del extracto etanólico de	Matricaria
chamomilla	32
3.6.3. Enjuague de extracto etanólico de Matricaria	chamomilla
2.6.4. Egga puo analitica	
3.6.4. Fase pre analítica	
3.6.5. Fase analítica	
3.6.6. Fase post analítica	38
3.6.7. Técnica de medición	38
3.7. Análisis de datos	39
3.8. Consideraciones éticas	40
IV. RESULTADOS	42
V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	52
VI. CONCLUSIONES	56
VII. RECOMENDACIONES	57
VIII. REFERENCIAS	58
IX. ANEXOS	66
9.1. Anexo A	66
9.1.1. Ficha de recolección de datos	
9.2. Anexo B	
9.2.1. Carta de presentación	
9.3. Anexo C	68
9.3.1. Informe taxonómico	68

9.4. Anexo D.	69
9.4.1. Certificación del Streptococcus mutans ce	pa ATCC
25175	69
9.5. Anexo E	70
9.5.1. Certificado del agar Mueller Hinton	70
9.6. Anexo F	71
9.6.1. Certificado de la elaboración del extracto etano	ólico de la
Manzanilla	71
9.7. Anexo G	72
9.7.1. Certificado de la elaboración del enjuague bucal	72
9.8. Anexo H	73
9.8.1. Procedimiento	73
9.9. Anexo I	80
9.9.1. Análisis microbiológico durante las 24 horas	80
9.9.2. Análisis microbiológico durante las 48 horas	82
9.10. Anexo J	84
9.10.1. Informe de laboratorio y cálculos	84
9.11. Anexo K	86
9.11.1. Matriz de consistencia	86

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Medidas descriptivas del efecto antibacterial a las 24 horas y 48 horas del enjuague
bucal a base del extracto etanólico de Matricaria chamomilla al (25%, 50%, 75% y 100%) y la
clorhexidina al 0.12% frente el <i>Streptococcus mutans</i>
Tabla 2. Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk de cada tipo del enjuague bucal antibacterial
dentro de 24 horas y 48 horas
Tabla 3. Comparación del efecto antibacterial del enjuague bucal a base extracto etanólico de
Matricaria chamomilla (25%, 50%, 75% y 100%) y la clorhexidina al 0.12% sobre el
Streptococcus mutans ATCC 25175 a las 24 horas y 48 horas
Tabla 4. Comparaciones múltiples para el diámetro de los halos de inhibición 24 horas
47
Tabla 5. Comparaciones múltiples para el diámetro de los halos de inhibición 48 horas
48
Tabla 6. Comparación el efecto antibacterial del diámetro de los halos de inhibición en 24
horas y 48 horas

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución del comportamiento en diámetro del halo de inhibición a las 24
horas
Figura 2. Distribución del comportamiento en diámetro del halo de inhibición a las 48
horas
Figura 3. Comparación del efecto antibacterial del enjuague bucal a base extracto etanólico de
Matricaria chamomilla (25%, 50%, 75% y 100%) y la clorhexidina al 0.12% sobre e
Streptococcus mutans ATCC 25175 a las 24 horas y 48 horas

RESUMEN

El Streptococcus mutans se relaciona con la aparición de caries dental en la cavidad bucal. Por ello, es esencial implementar medidas preventivas como el uso de enjuagues bucales que tengan propiedades antibacterianas mediante la utilización de plantas medicinales. Objetivo: Evaluar el efecto antibacterial del enjuague bucal elaborado de extracto etanólico de manzanilla y la clorhexidina frente al Streptococcus mutans. Método: Esta investigación tiene un enfoque experimental, in vitro, comparativo y longitudinal, donde se elaboró 13 placas Petri utilizando cuatro concentraciones diferentes del enjuague bucal elaborado de extracto etanólico de manzanilla y se contrastó con un control positivo. Para el análisis estadístico se aplicó la prueba de ANOVA y la prueba de post hoc de Games – Howell, permitiendo comparar las medias entre pares. Finalmente, se evaluó las diferencias entre tiempos, se empleó la prueba de Student para muestras relacionadas y se midió el efecto a través de la d de Cohen's. Resultados: Se observó que el enjuague bucal elaborado de extracto etanólico de manzanilla al 25%, 50%, 75% y 100%, inhibió de manera significativa el crecimiento del Streptococcus mutans. Además, se confirmó diferencias estadísticamente significativas entre los grupos analizados, con un valor de p < 0.05. Conclusiones: El enjuague bucal elaborado de extracto etanólico de manzanilla al 25%, 50%, 75% y 100% presentó efecto antibacterial contra al Streptococcus mutans. En particular, el enjuague bucal al 100% es el que más se aproxima al efecto antibacterial de la clorhexidina.

Palabras clave: extracto etanólico, enjuague bucal, Streptococcus mutans, Matricaria chamomilla, manzanilla.

ABSTRACT

Streptococcus mutans is related to the appearance of dental caries in the oral cavity. Therefore, it is essential to implement preventive measures such as the use of mouthwashes that have antibacterial properties through the use of medicinal plants. Objective: To evaluate the antibacterial effect of mouthwash made from ethanolic chamomile extract and chlorhexidine against Streptococcus mutans. Method: This research has an experimental, in vitro, comparative and longitudinal approach, where 13 Petri dishes were prepared using four different concentrations of mouthwash based on ethanolic extract of chamomile and compared with a positive control. For statistical analysis, the ANOVA test and the Games-Howell post hoc test were applied, allowing comparison of means between pairs. Finally, the differences between times were evaluated, the Student test for related samples was used and the effect was measured through Cohen's d. English: Results: It was observed that the mouthwash made from 25%, 50%, 75% and 100% ethanolic extract of chamomile significantly inhibited the growth of Streptococcus mutans. In addition, statistically significant differences were confirmed between the groups analyzed, with a p value < 0.05. Conclusions: The mouthwash made from 25%, 50%, 75% and 100% ethanolic chamomile extract showed antibacterial effect against Streptococcus mutans. In particular, the 100% mouthwash is the one that most closely resembles the antibacterial effect of chlorhexidine.

Keywords: ethanolic extract, mouthwash, Streptococcus mutans, Matricaria chamomila, chamomile.

I. INTRODUCCIÓN

La cavidad oral tiene una microflora natural, cuya presencia confiere una serie de propiedades beneficiosas para el huésped. Sin una higiene bucal adecuada, la placa puede acumularse en zonas susceptibles a caries dental, gingivitis o enfermedad periodontal (Kharaeva et al., 2020). Por ello, se debe complementar con el control mecánico sobre la placa bacteriana y una mejor higiene bucal diaria, incluidos los agentes antibacterianos incorporados en las pastas dentales y los enjuagues bucales para inhibir la acumulación y el crecimiento del biofilm dental en aquellas áreas de difícil acceso durante el cepillado. (Chatzopoulos et al., 2022)

El *Streptococcus mutans* se considera el microorganismo más comúnmente asociado con la formación caries dental en la cavidad oral, por lo que se deben seguir estrategias de prevención y control para reducir o eliminar esta bacteria en la cavidad bucal. Este microorganismo es susceptible a los agentes antibacterianos como la clorhexidina, aunque su uso prolongado puede generar efectos secundarios tales como decoloración de los dientes, cambios en alteraciones del gusto, aumento del cálculo supragingival, inflamación periodontal y descamación de la mucosa. (Talavera, 2015; Baban, 2015; Gaete y Olivia, 2012; Cárcamo et al., 2011)

La fitoterapia, que utiliza plantas con fines medicinales, ha abierto nuevas posibilidades para el cuidado de la salud bucal. En Perú, hay una amplia gama de plantas con propiedades medicinales, incluyendo la Matricaria chamomilla. Esta es una de las escasas plantas medicinales cuyos componentes químicos han sido evaluados de manera exhaustiva. Estos estudios se han realizado principalmente en formas de aceite e infusión de la manzanilla, sin embargo, existen escasos o pocos estudios en los enjuagatorios. Gracias a sus propiedades antioxidantes, antimicrobianas y antiinflamatorias, la manzanilla ayuda a controlar la placa dental y gingivitis. (Gościniak et al., 2021; Milani et al. 2018; Lins et al., 2013)

1.1. Descripción y formulación del problema

La cavidad oral alberga una flora microbiana variada, compuesta principalmente por bacterias, hongos y virus, los cuales pueden adoptar una conducta patógena y dar lugar a la aparición provocar de diversas enfermedades. Uno de estos microorganismos es el *Streptococcus mutans*, que se encuentra predominantemente en el biofilm dental y es uno de los principales contribuyentes a la etiología de caries dental y enfermedades periodontales vinculadas estrechamente con la mala higiene bucal. (Santos-Zambrano et al., 2020; Lins et al., 2013)

La remoción mecánica del biofilm dental se llevó a cabo a través realiza del cepillado; sin embargo, el uso ocasional de hilo dental resulta insuficiente, dado que la mayoría de las bacterias presentes en la cavidad bucal no son erradicadas (Gaete y Olivia, 2012). No obstante, se presenta la dificultad para muchas personas de cepillarse durante el tiempo requerido, limpiar adecuadamente todas las superficies dentales y mantener un nivel óptimo higiene bucal, lo que conlleva a una mayor incidencia de caries y enfermedades periodontales. Se debe complementar el control mecánico del biofilm dental a través de enjuagues bucales, los que contienen agentes antimicrobianos que inhiben la formación y el crecimiento del biofilm dental en áreas que no se puede acceder fácilmente con el cepillado. (Chatzopoulos et al., 2022; Safiaghdam et al., 2018)

Hay diferentes enjuagues bucales que pueden reducir la cantidad de bacterias en la boca, pero algunos contienen productos químicos con efectos secundarios no deseados, como manchas en los dientes, disgeusia, desgaste dentario y úlceras bucales. Hay interés creciente en productos herbáceos que pueden ayudar a controlar enfermedades bucales comunes sin usar productos químicos. (Pentapati et al., 2020)

Una de estas hierbas es la Matriarca chamomilla (manzanilla), la más empleada debido a que posee propiedades antibacterianas, antiinflamatorias y antioxidantes. Actúa contra el

Streptococcus mutans, que es el microorganismo más frecuente en la cavidad oral, permitiendo reducir la inflamación y sangrado de las encías. (Gościniak et al., 2021; Milani et al., 2018; Cárcamo et al., 2011)

Considerando las propiedades antibacterianas, antiinflamatorias y antioxidantes del enjuague bucal de manzanilla, se sugiere que su uso podría disminuir la carga bacteriana en la cavidad oral y contribuir a la prevención de caries dental en la población. Por consiguiente, se formula la siguiente interrogante de estudio:

¿Cuál es el efecto antibacterial del enjuague bucal elaborado de extracto etanólico de Matricaria chamomilla frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en un estudio in vitro?

1.2. Antecedentes

1.2.1. Antecedentes internacionales

Naghsh et al. (2023) realizó un estudio en Irán que examinó las propiedades antimicrobianas de tres enjuagues bucales, incluida la manzanilla (Matrika), A. vera-té verde y la clorhexidina (CHX) sobre cincos especies bacterianas como *Streptococcus oralis, Streptococcus sanguis, Streptococcus mutans, Porphyromonas gingivalis y Eikenella corrodens*. Se utilizaron tres métodos de investigación; uno para realizar el conteo de colonias mediante la unidad formadora de colonias (UFC) y los demás para medir el tamaño del halo inhibitorio mediante difusión en disco y difusión en pozo. En los resultados se evidenció que la clorhexidina (CHX) posee propiedades antimicrobianas significativamente superior en comparación con los otros dos enjuagues bucales, según los tres métodos evaluados. El enjuague bucal de A. vera- té verde registró un efecto significativamente superior que al enjuague bucal de manzanilla (Matrika) en todas las especies bacterianas, a excepción de Streptococcus *sanguis*. Se concluyó que los enjuagues bucales a base de hierbas tenían efectos potencialmente antibacterianos, aunque se requieren más estudios clínicos para validar su

efectividad.

Braga et al. (2020) desarrollaron una investigación en Brasil que consistió en evaluar los efectos anti-biofilm y anti-caries de un enjuague bucal experimental que contenía extracto acuoso de Matricaria chamomilla L. Se produjo una biopelícula de micrococos en esmalte bovino, a partir de una mezcla de saliva humana mezclada con McBain. La biopelícula fue tratada de forma diaria utilizando las siguientes concentraciones: Vochysia tucanorum Mart. (2,5 mg/ml); Myrcia bella Cambess. (1,25 mg/ml); Matricaria chamomilla L. (20 mg/mL); y Malva sylvestris (Malvatricin® Plus- Daudt). Empleando como control positivo la clorhexidina al 0,12 % (PerioGard®-Palmolive) y como control negativo fue una solución salina tamponada con fosfato (PBS). Se observó que las unidades formadoras de colonias (UFC) de estreptococos totales y Lactobacillus sp también se redujeron significativamente por el efecto de la Matricaria chamomilla L. Además, Malva sylvestris demostró una reducción del 63,4 % en la pérdida mineral, mientras que la clorhexidina y Matricaria chamomilla L. presentaron reducciones del 47,4 % y 39,4 % respectivamente, en la desmineralización del esmalte en comparación con PBS. En conclusión, se establece que la Matricaria chamomilla L. presenta una acción anti-biopelícula menor, pero un efecto anti- caries comparable al de la clorhexidina.

Garza (2018) realizó una investigación en México enfocada en la evaluación del impacto antibacteriano del extracto etanólico de la manzanilla como una potencial opción terapéutica para el tratamiento de la caries temprana de la infancia. El procedimiento de dicha investigación consistió en un enfoque experimental in vitro de carácter transversal y prospectivo. Se elaboraron extractos etanólicos a diferentes concentraciones al 100% y 50%, con el fin de evaluar el impacto antibacteriano sobre el *Streptococcus mutans y Streptococcus sobrinus* a través del método de difusión en agar. Posteriormente, se recolectaron muestras de saliva de los niños antes y después de la aplicación de tres tipos de enjuague: extracto de

manzanilla, Colgate Plax y agua destilada. Los hallazgos indicaron que el extracto de manzanilla al 100% mostró el halo más elevado, alcanzando una dimensión de 12 mm, mientras que el extracto de manzanilla al 50% presentó un halo de 8 mm. Además, logró reducir las unidades formadoras de colonias (UFC) del Streptococcus. *mutans y Streptococcus sobrinus*. Se llegó a la conclusión de que el extracto de manzanilla al 100% ejerce un efecto antimicrobiano contra el *Streptococcus mutans y Streptococcus sobrinus*, asimismo, disminuye la producción de las unidades formadoras de colonias (UFC) de las bacterias citadas, tras la utilización del enjuague bucal.

Pequeño et al. (2018) llevaron a cabo un estudio en Brasil que consistió en evaluar la actividad inhibidora del extracto hidroalcohólico de Matricaria recutita (manzanilla) en biopelículas de *Cándida albicans* y *Enterobacter cloacae*. El extracto hidroalcohólico de Matricaria recutita L. al 100, 200 y 300 mg/mL en comparación con digluconato de clorhexidina 0,12% (Periogard®). Se realizó dos grupos para determinar la viabilidad microbiana: G1 - recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) en agar y G2 - cuantificación de ADN, viable con colorante violeta cristal mediante espectrofotometría. Los resultados registro que redujo significativamente el número de UFC/mL en la biopelícula de *Enterobacter cloacae* en todas las concentraciones del extracto hidroalcohólico de Matricaria recutita L. y la biopelícula de *Cándida albicans* no hubo diferencia en número de UFC/mL ni en la cantidad de ADN viable en ninguna concentración del extracto hidroalcohólico de Matricaria recutita. Se concluyó que el extracto hidroalcohólico de Matricaria recutita a 300 mg/mL en biopelículas de *Enterobacter cloacae* tiene mayor efectividad igual que el digluconato de clorhexidina 0,12%.

Ortiz (2014) llevó a cabo un estudio de investigación en Ecuador, cuyo objetivo fue estimar la acción inhibitoria de la Matricaria chamomilla, comúnmente conocida como manzanilla, sobre la cepa de *Streptoccocus mutans*. Se elaboró extracto acuoso de Matricaria

chamomilla "manzanilla" en las concentraciones 15%, 20%, 25%, 50% y 100% esterilizadas por dos métodos de esterilización mecánico y térmico. Los resultados concluyeron que los tres mejores efectos inhibitorios fueron en este orden: por esterilización mecánico del extracto al 100%, esterilización térmica del extracto al 100% y esterilización mecánica del extracto al 50%. Se logró comprobar que los dos métodos de esterilización mecánica y térmica no mostró diferencia significativa y con estos hallazgos se demostró que manzanilla puede ser una posible alternativa en la prevención odontológica.

El estudio realizado por Lins et al. (2013) en Brasil, fue examinar el impacto de un enjuague bucal que contenía extractos de las plantas medicinales de Aroeira (Schinus terebinthifolius) y manzanilla (Matricaria recutita L.) con el propósito de contribuir al tratamiento de la gingivitis y a la reducción del biofilm dental. Se ejecutó un ensayo clínico de diseño doble ciego aleatorio, el cual se organizó en tres grupos. El primer grupo recibió un enjuague bucal que contenía clorhexidina, actuando como grupo de control positivo; el segundo grupo utilizo un enjuague bucal con manzanilla, correspondiente al grupo de prueba 1; y el tercer grupo empleó un enjuague bucal con Aroeira, que corresponde al grupo de prueba 2. Para evaluar la condición periodontal de la muestra realizada en los días 1, 7 y 15, se aplicaron los índices de sangrado gingival (ISG) y placa (PI). Los resultados indicaron que el enjuague bucal con manzanilla (Matricaria recutita L.) mostró el mejor desempeño en la reducción del índice de placa a comparación de los otros enjuagues y acerca de reducción de la inflamación gingival no hay diferencia significativa entre los enjuagues bucales.

Otro estudio en Brasil fue realizado por Alburquerque et al. (2010), que consistió en examinar primero el efecto antimicrobiano in vitro del extracto hidroalcohólico de Matricaria recutita L. en los microorganismos que se encuentran en el biofilm dental. Los investigadores compararon los promedios de los halos inhibidores obtenidos en el cultivo de cepas de *Streptococcus mitis (ATCC9811), Streptococcus mutans (ATCC25175), Streptococcus*

sanguinis (ATCC10557), Streptococcus sobrinus (ATCC27609) y Lactobacillus Casei (ATCC7469). Esto se realizó utilizando el método de difusión en medio sólido para el tamizaje y para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico de Matricaria recutita L. incubadas en medio de cultivo de caldo BHI (Brain Heart Infusion) a 37°C por 18 a 20 horas. Se determinó que el efecto antimicrobiano in vitro contra los microorganismos presentes en el biofilm dental, se concluyó que el extracto hidroalcohólico de Matricaria recutita L. de 0,84 g/mL fue el ideal para el estudio.

1.2.2. Antecedentes nacionales

La investigación llevada a cabo por Gomero (2022) se desarrolló en Lima con el propósito de establecer la actividad antibacteriana in vitro de la manzanilla, tanto en su presentación de aceite esencial como en infusión, frente al *Streptococcus mutans*. El enfoque adoptado fue de carácter experimental, utilizando el método de Kirby Bauer. En este estudio se emplearon cuatro compuestos: aceite esencial de manzanilla al 35%, infusión de manzanilla al 20%, clorhexidina al 0.12% como grupo control positivo, y agua destilada como grupo control negativo. La muestra analizada constó de 44 placas Petri inoculadas con las cepas de *Streptococcus mutans*, distribuidas equitativamente con 11 placas en cada grupo, y la incubación se realizó durante 48 horas. Los hallazgos evidencian que el aceite esencial de manzanilla exhibió una actividad antibacteriana contra el Streptococcus *mutans*, a diferencia de la infusión de manzanilla, la cual no manifestó ninguna acción antibacteriana. Se infiere que el aceite esencial de manzanilla demostró una actividad antibacteriana contra el Streptococcus *mutans* a comparación con la infusión de manzanilla.

El estudio desarrollado en Huancayo de Sebastiani y Bances (2021) cuya finalidad fue evaluar la acción inhibitoria del enjuague bucal a base de Matricaria chamomilla, presentando en forma de extracto etanólico, en relación con el microorganismo Streptococcus *mutans*. El presente estudio se llevó a cabo empleando un enfoque cuantitativo, prospectivo, transversal y

experimental. Se utilizaron 2500 gr de flores de manzanilla disueltas en etanol al 96°, facilitando la elaboración de extractos etanólicos y enjuagues bucales a diversas concentraciones: 15%, 20% y 25%. Como control positivo se empleó un enjuague bucal comercial, específicamente Listerine. Posteriormente, se evaluó la acción inhibitoria de dichos extractos etanólicos y enjuagues bucales frente al Streptococcus *mutans* utilizando la técnica de Kirby Bauer, llevándose a cabo el procedimiento en 15 placas Petri por cada concentración del extracto etanólico y enjuague bucal de Matricaria chamomilla. Los resultados obtenidos indicaron que el extracto etanólico de manzanilla a las concentraciones 15%, 20% y 25% presentó diámetro de halo de inhibición de 9,94 mm, 11,01 mm y 13,05 mm respectivamente. En el caso de los enjuagues bucales de manzanilla, los diámetros de halo de inhibición correspondientes a las concentraciones del 15%, 20% y 25% fueron de 13,11 mm; 13,52 mm y 13,99 mm respectivamente. Se llego a la conclusión que el extracto etanólico y enjuague bucal de manzanilla al 25% mostró que presenta más efectividad acerca de la acción inhibitoria contra el *Streptococcus mutans* a diferencia de las demás concentraciones.

En Trujillo, se llevó a cabo el estudio de López (2018), en el cual se comprobó la actividad antibacteriana de un gel formulado a partir de aloe vera y el otro gel preparado con extracto hidroetanólico de manzanilla, evaluándose su eficacia frente al Streptococcus *mutans*. Este estudio adoptó un enfoque cuantitativo y empleó un diseño experimental de tipo transversal y prospectivo. Se formularon dos tipos de geles: uno basado en aloe vera en concentraciones del 30%, 40% y 50%, y el otro gel elaborado con extracto hidroalcohólico de manzanilla en concentraciones del 15%, 20% y 25%. Para comprobar la actividad antibacteriana, se aplicó el método de Kirby-Bauer. Los hallazgos obtenidos indicaron que el gel formulado a partir de aloe vera al 50% presentó un diámetro de halo de inhibición de 8.7 mm. Por otro lado, el gel elaborado con extracto hidroalcohólico de manzanilla en las tres concentraciones formó halos de inhibición, siendo el mayor la concentración de 25% con un

diámetro de halo de inhibición de 10.2 mm. En conclusión, se puede afirmar que el gel elaborado con extracto de hidroetanólico de manzanilla exhibió una mayor actividad antibacteriana contra el *Streptococcus mutans en* comparación con el gel formulado a partir de aloe vera.

La investigación llevada a cabo por Obando (2018) se desarrolló en Trujillo y tuvo como propósito evaluar la acción antibacteriana in vitro del aceite esencial extraído de la inflorescencia de Matricaria chamomilla sobre la cepa de *Streptococcus mutans sp* (ATCC 25175). Esta investigación se caracterizó por ser de tipo experimental, en el cual se utilizaron diversas concentraciones del aceite esencial extraído de la inflorescencia de la Matricaria chamomilla frente al *Streptococcus mutans*. La evaluación de la acción antibacteriana se realizó empleando placas Petri inoculadas y utilizando el método de estrías, lo cual permitió calcular el halo de inhibición en mm. Se concluye que el aceite esencial extraído de la inflorescencia de Matricaria chamomilla demostró ejercer una acción antibacteriana sobre la cepa estudiada, en las diversas concentraciones empleadas en el presente estudio.

En Puno se elaboró el estudio de Choque (2017), que tuvo como objetivo evaluar la eficiencia del enjuague bucal de Matricaria chamomilla en comparación con el enjuague bucal preparado a base de Plántago major en relación con el control de la placa dental. La muestra se realizó en el instituto educativo secundario de Juan Bustamante de Lampa en adolescentes entre las edades de 15 a 16 años. Este estudio tuvo como diseño un enfoque comparativo, longitudinal y prospectivo, donde se agruparon en tres grupos de 21 alumnos cada uno. Para el grupo experimental I, se administró un enjuague bucal a partir de una infusión de Matricaria chamomilla. En el caso del grupo experimental II, se utilizó un enjuague bucal preparado a base de Plántago major. Por último, al grupo III no se le administró ningún tipo de enjuague bucal. Las evaluaciones se llevaron a cabo a los 7 y 14 días, utilizando el índice de higiene oral simplificado (IHOS) para su registro. Se llego a la conclusión de que la efectividad del enjuague

bucal a partir de una infusión de Matricaria chamomilla superó al enjuague bucal preparado base de Plántago major respecto al control de la placa dental.

La investigación llevada a cabo por Jáuregui (2013) en Trujillo, tiene como objetivo establecer la eficiencia antibacteriana del enjuague bucal en forma de aceite esencial de manzanilla contra el microorganismo *Streptococcus mutans*. Este estudio tiene un carácter experimental in vitro y se estructuró en cinco grupos que se conformó en tres enjuagues bucales en forma de aceite esencial de manzanilla en diversas concentraciones al 0.10%, 0.25%, 0.50% y los otros dos grupos fueron los controles, control positivo (aceite esencial de manzanilla puro) y control negativo (fórmula del colutorio sin aceite). Para el análisis, se inoculó la cepa en medio de cultivo de agar soya- tripticasa durante un periodo de 24 horas. En este intervalo, se llevó a cabo la medición del crecimiento bacteriano mediante el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC). Los resultaron indicaron que no se encontraron diferencias significativas en cuanto el promedio de las unidades formadoras de colonias (UFC) entre las diversas concentraciones del enjuague bucal en forma de aceite esencial de manzanilla.

En Lima, Cosco (2010) desarrolló un estudio que consistió en la evaluación de la actividad inhibitoria del aceite esencial de la Matricaria chamomilla sobre la flora mixta salival de una muestra especifica. En particular, este estudio se centró en una cepa del *grupo Mutans* de dicha flora salival, así como en la cepa patrón de *Streptoccocus mutans* ATCC 25175. Para realizar esta investigación, se elaboraron diversas concentraciones del aceite esencial de Matricaria chamomilla al 25%, 50% y 100%, además de establecer un grupo control utilizando la clorhexidina al 0.12%. La muestra se recolectó a partir de 15 pacientes que acudieron a la clínica de odontopediatría de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Los hallazgos obtenidos indican que las diversas concentraciones del aceite esencial de la Matricaria chamomilla exhibieron una actividad inhibitoria positiva en los cultivos de flora mixta salival, así como en la cepa aislada del *grupo Mutans* y en la cepa patrón

de *Streptoccocus mutans*. No obstante, el grupo control de clorhexidina al 0.12% demostró una actividad inhibitoria superior en comparación con las tres concentraciones del aceite esencial de Matricaria chamomilla. En conclusión, se registró que el aceite esencial de Matricaria chamomilla exhibió actividad inhibitoria en los tres grupos de microorganismos analizados, aunque no logró superar la efectividad de la clorhexidina al 0.12%.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

• Evaluar el efecto antibacterial del enjuague bucal elaborado de extracto etanólico de Matricaria chamomilla en diferentes concentraciones (25%, 50%, 75%, 100%) y clorhexidina al 0.12% frente el *S. mutans spp.* in vitro.

1.3.2. Objetivos específicos

- Calcular el efecto antibacterial mediante el diámetro de los halos de inhibición del enjuague bucal elaborado de extracto etanólico de Matricaria chamomilla en diferentes concentraciones (25%,50%,75% y 100%) frente al *S. mutans* durante las 24h.
- Calcular el efecto antibacterial mediante el diámetro de los halos de inhibición del enjuague bucal elaborado de extracto etanólico de Matricaria chamomilla en diferentes concentraciones (25%,50%,75% y 100%) frente al *S. mutans* durante las 48h.
- Calcular el efecto antibacterial mediante el diámetro de los halos de inhibición de la clorhexidina al 0.12% frente al *S. mutans* durante las 24h.
- Calcular el efecto antibacterial mediante el diámetro de los halos de inhibición de la clorhexidina al 0.12% frente al *S. mutans* durante las 48h.
- Comparar el efecto antibacterial del enjuague bucal elaborado de extracto etanólico de Matricaria chamomilla en diferentes concentraciones (25%, 50%, 75%, 100%) con la clorhexidina al 0.12 %; mediante el promedio de los halos de inhibición frente al *S. mutans* durante las 24h y 48 h, para determinar cuál presenta mejor efectividad.

1.4. Justificación

Desde el punto de vista teórico, este trabajo tiene como objetivo proporcionar conocimiento científico e innovador debido al creciente interés en los productos dentales a base de hierbas que pueden ayudar a mejorar la eficiencia de la práctica odontológica y promover una prevención segura, rentable y eficiente para combatir microorganismos como el *Streptococcus mutans*, ya que es la principal bacteria cariogénica presente en la cavidad oral.

Socialmente, se pretende fomentar tanto a los profesionales de la salud como a la población en general a adoptar una adecuada higiene bucal. Esto no solo limitada únicamente al cepillado dental, sino que se busca complementarlo con el uso de otros productos dentales, como enjuagues bucales especialmente elaborados a base de hierbas y respaldados por la fitoterapia. La manzanilla, una planta medicinal de uso cotidiano en el Perú, se destaca por ser uno del producto natural más utilizado por sus componentes y efecto positivo sobre la placa bacteriana, gingivitis, así como en la reducción de microorganismos cariogénicos.

Desde una perspectiva metodológica, este estudio se concentra en la valoración de la acción antibacteriana del enjuague bucal que contiene extracto etanólico de Matricaria chamomilla en diversas concentraciones, así como de la clorhexidina 0,12%, en relación con la cepa de *Streptococcus mutans spp* (ATCC 25175). Los resultados obtenidos son válidos y confiables, y se constituirán como una referencia para investigaciones futuras, además de contribuir a la anhelada aplicación práctica de estos y otros hallazgos.

1.5. Hipótesis

Considerando que el enjuague bucal elaborado a partir del extracto etanólico de Matricaria chamomilla (manzanilla) exhibe propiedades antibacterianas, antiinflamatorias y antioxidantes, es probable que se observe una variación en el efecto antibacterial a diferentes concentraciones, en comparación con la clorhexidina 0.12%, frente a la cepa *Streptococcus mutans spp* (ATCC 25175), en condiciones in vitro.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación

2.1.1. Caries dental

Se reconoce la existencia de un problema de salud pública a nivel global, que afecta a personas de todas las edades y ejerce un impacto en el 80% al 90% de la población. Según la Organización Panamericana de la Salud, esta patología se clasifica como el principal inconveniente de salud oral debido a su alta prevalencia. La caries dental es una afección bacteriana caracterizada que se distingue por ser localizada, de desarrollo progresivo y transmisible, originada por los microorganismos que habitan en la cavidad oral, especialmente en el biofilm dental. Los factores que aumentan el riesgo de esta enfermedad comprenden una dieta rica en azúcares, una mala higiene bucal, la ausencia de flúor y ciertas alteraciones en la composición del esmalte dental. Estos factores modifican el pH de la cavidad oral, cambiando de un pH neutro en uno ácido, lo que a su vez provoca la desmineralización de los dientes. (Acosta y Armas, 2022; Guven et al., 2019)

Entre los microorganismos que residen en la cavidad bucal, el Streptococcus *mutans* se destaca como el principal responsable del desarrollo de la caries dental, dado que desempeña un papel clave en la formación del biofilm dental o placa bacteriana. Por lo tanto, el efecto antibacteriano de los dentífricos y los enjuagues bucales actúan como complemento diario de la higiene oral para prevenir el crecimiento microbiano en las superficies de los dientes. (Garg et al., 2023, Jauhari et al., 2015)

2.1.2. Fitoterapia en odontología

El uso de las plantas con fines terapéuticos tiene amplia aceptación popular y apoyo de la Organización Mundial de la Salud, motivando la investigación científica. Este tipo de terapia alternativa ha sido buscada para combatir enfermedades con bajo costo y fácil acceso. Dado el importante desarrollo de patógenos multirresistentes, existe una clara necesidad de alternativas

sobre el cuidado de la salud bucal más baratas, seguras y efectivas.

Los estudios más recientes evidencian que los extractos de hierbas poseen un considerable efecto antibacteriano sobre los microorganismos patógenos de la cavidad bucal. Por lo tanto, los dentífricos y los enjuagues bucales están elaborados con una variedad de preparados de hierbas que son excelentes para la salud bucal, ya que ayudan a combatir la caries dental, gingivitis y enfermedad periodontal. (Garg et al., 2023; Chen et al., 2014)

En Odontología, la fitoterapia ha usado plantas en la composición de dentífricos, enjuagues bucales y otros. La manzanilla es uno de los extractos naturales más usados en la práctica dental por sus componentes y el efecto positivo sobre la placa bacteriana y gingivitis, reducción de microorganismos cariogénicos, mejora del curso y gravedad de la mucositis, aceleración de la cicatrización de heridas y efecto antibacteriana. (Abbasi et al., 2022)

2.1.3. Matricaria chamomilla

Matricaria chamomilla es una planta originaria de Europa, que también crece en lugares como África y América. Pertenece a la familia Asteraceae y es rica en aceites esenciales, sesquiterpenoides como alfa-bisabolol, el camazuleno y compuestos flavonoides. (Abbasi et al., 2022; Cárcamo et al., 2011)

Desde la antigüedad, Perú ha sido favorecido con una abundante diversidad de plantas medicinales, que ayudan aliviar todo tipo de dolencias menores e incluso poseen propiedades curativas para enfermedades crónicas. Las distintas regiones del país, como la costa, sierra y selva, albergan una amplia gama de estas plantas, siendo de la familia Asteraceae la que cuenta con el mayor número de especies medicinales. Las regiones donde más se siembra la manzanilla son Junín (Tarma), Lambayeque (Ferreñafe) y Apurímac (Andahuaylas), hoy es altamente comercializada.

2.1.3.1. Descripción botánica. Es una planta herbácea anual perteneciente a la familia de las Asteráceas. La verdadera manzanilla presenta raíces delgadas en forma de huso que se

adentran en el suelo. Su tallo es erecto y fuertemente ramificado, puede alcanzar alturas entre 10 a 80 cm. Sus hojas son estrechas y alargadas son bipinnadas y tripinnadas. Las cabezas florales de esta planta posen un diámetro de 10 a 30 mm, son pecioladas y heterogámicas. Las flores presentan una forma tubular en tonos amarillo y dorado, con cincos dientes que miden entre 1,5 a 2,5 mm de largo y siempre terminan en un tubo glandular. La planta tener entre 11 y 27 flores blancas, que oscilan entre 6 -11 mm de longitud y 3,5 mm de ancho, dispuestas de forma concéntrica. El receptáculo tiene un diámetro de entre 6 y 8 mm, comenzando con una forma plana y cónica. Finalizando en un extremo hueco en forma de cono, lo cual es una característica distintiva muy relevante de la Matricaria chamomilla L. Por último, el fruto se presenta como un aquenio de un color marrón amarillento. (Da Costa et al., 2019)

2.1.3.2. Taxonomía. Es perteneciente del Reino: Plantae, División: Spermatophyta, Subdivisión: Magnoliophytina, Clases: Magnoliopsida, Orden: Asterales, Familia: Asteraceae, Género: Matricaria y Especie: Matricaria chamomilla L. (Da Costa et al., 2019)

Existen tres variedades de plantas herbáceas llamadas manzanilla, todas de la familia Asteráceas y con características semejantes. La primera es la Camomila alemana, también conocida como Matricaria recutita, una planta anual originaria de las zonas templadas de Europa. La segunda es la manzanilla romana o Camomila común, también conocida como Chamaemelum Nobile, una planta perenne que crece en el sur de Europa. Por último, está la manzanilla de campo o bastarda, también conocida como Anthemis arvensis, una planta anual que crece de forma silvestre y tiene un sabor más amargo que las demás. De estas tres, la manzanilla alemana es la más popular y la se comercializa con mayor frecuencia.

2.1.3.3. Componentes. Presenta clases de compuestos activos, tales como sesquiterpenos, flavonoides, cumarinas y poliacetilenos. Posee once compuestos fenólicos bioactivos, como herniarina y umbeliferona (cumarina), ácido clorogénico y ácido cafeico (fenilpropanoides), apigenina, apigenin-7-Oglucósido, luteolina y luteolin-7-O-glucósido

(flavonas), quercetina y rutina (flavonoles) y naringenina (flavanona). (Fortuna et al., 2022; Da Costa et al., 2019)

2.1.3.4. Propiedades. La Matricaria chamomilla, comúnmente conocida como manzanilla, presenta diversas propiedades, entre las cuales se destacan sus efectos antimicrobianos, antiinflamatorios, antioxidantes, antiespasmódicos, antivirales y sedantes. Estas propiedades se deben en parte a sus compuestos fenólicos, son sustancias bioactivas que se encuentran en grandes cantidades en las plantas alimenticias que los humanos consumen regularmente. (Satyal et al., 2015)

La manzanilla destaca por su notable capacidad antiinflamatoria, la cual se debe principalmente a la presencia de apigenina y sus derivados acetilados. Además, se ha comprobado que los flavonoides juegan un papel esencial en la actividad quimio preventiva frente a la radiación ultravioleta, así como en sus propiedades antitumorales y sedantes. Por otro lado, se reconoce al alfa-bisabolol por su acción antiséptica, antiulcerosa y antiinfecciosa. Asimismo, los aceites esenciales favorecen las propiedades antibacteriana y antifúngica. (Fortuna et al., 2022; Vara et al., 2019)

También contribuye a promover efectos relajantes, antiinflamatorios y calmantes mediante el control inteligente de bacterias y otros microorganismos que habitan en la cavidad oral. Se ha demostrado que alivia los síntomas de la gingivitis, como la inflamación y el sangrado en el área de las encías (Cárcamo et al., 2011). Además, posee efectos bactericidas y bacteriostáticos frente al *Streptococcus mutans, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Salmonella typhi* y así como efectos antifúngicos frente a la *Cándida albicans*. (Lins et al., 2013)

2.1.3.5. Utilidad. La manzanilla se comercializa ampliamente como té de hierbas, así como en ungüentos, jabones, tinturas e inhalaciones. Los ingredientes medicinales se obtienen de manera tradicionalmente a partir de flores secas, las cuales son ricas en aceite esencial y

flavonoides, conocidos por sus efectos sedantes, antiinflamatorios y antimicrobianos. Al mezclarlo con agua, etanol o metanol como disolventes, se pueden elaborar extractos correspondientes que se conocen respectivamente como extractos acuosos o alcohólicos, como etanólico y/o metanólico. (Fortuna et al., 2022; Morales Bozo et al., 2015)

La infusión de manzanilla (té) es la presentación terapéutica más común y se utilizada en las enfermedades bucodentales relacionadas con procesos infecciosos y/ o antiinflamatorios. Contienen entre un 10-15% del aceite esencial disponible en las flores. (Morales et al., 2018; Cárcamo et al., 2011)

El aceite de manzanilla es un ingrediente popular en aromaterapia y cuidado del cabello. El aceite esencial extraído de la flor varía en concentración entre 0,42 a 2% y está formado por compuestos como bisabolol, camazuleno, sesquiterpenos cíclicos, y terpenos. Ayuda a combatir las bacterias y proteger las heridas de la boca de infecciones. El uso de la planta entera sirve para aplicación tópica ya que contiene camazuleno. Junto con un enjuague bucal y pasta de dientes trata los trastornos inflamatorios de la boca y la garganta. (Vara et al., 2019; Satyal et al., 2015)

2.1.3.6. Aplicaciones. Las aplicaciones de la manzanilla son:

A. Medicinal. La manzanilla es una planta conocida por sus propiedades curativas, la cual puede ser utilizada en diversas áreas del cuerpo, ya sea en la piel o en el cabello. Además, se utiliza en situaciones de nerviosismo, insomnio, quemadura y fiebre. Proporciona asistencia en el alivio de diversas afecciones del aparato digestivo. En particular, este tratamiento resulta beneficioso para mejorar la digestión, facilitar la expulsión de los gases intestinales, alivia los dolores estomacales y prevenir náuseas o vómitos. Además, se ha demostrado que es eficaz en el tratamiento de otras dolencias, tales como cólicos, gastritis, úlceras gástricas, entre otras. (Fortuna et al., 2022; Da Costa et al., 2019; Hernández, 2015)

B. Odontológica. La manzanilla tiene acción en el control de microorganismos presentes

en el biofilm dental y en el manejo de afecciones como la xerostomía, gingivitis, infecciones bucales, ulceraciones aftosas e incluso resorción ósea. También se usa a menudo como un remedio natural para los abscesos dentales y reduce el crecimiento de microorganismos sobre las superficies dentarias, por lo que ayuda a combatir una gran variedad de patógenos periodontales siendo un tratamiento complementario valioso para la gingivitis crónica o recurrente. (Talebi et al., 2022)

El empleo de un sustituto salival casero que reúne la manzanilla y semillas de linaza puede ser una solución efectiva para combatir la xerostomía. Un estudio ha revelado que este remedio natural ofrece un alivio significativo en dos de los cinco síntomas más habituales: la sensación de sequedad bucal y la saliva espesa, superando incluso la eficacia de los sustitutos convencionales. (Morales Bozo et al., 2015)

Otra enfermedad es el síndrome de boca ardiente (SBA), que se presenta con síntomas de ardor o dolor en la cavidad bucal, especialmente en lengua, labios y paladar duro y blando. Las causas son debido a una mala adaptación de las prótesis dentales, los hábitos bucales parafuncionales, la candidiasis bucal, disminución en la producción de estrógenos, deficiencia de hierro, complejo B y ácido fólico. Para aliviar estas dolencias se recomendó el uso enjuague bucal a base de infusión de Matricaria recutita para mantener la boca húmeda cuatro veces al día por un intervalo de tres minutos. (Milani et al., 2018)

Se ha demostrado que el extracto de manzanilla (Matricaria chamomilla) es eficaz en el tratamiento de la mucositis oral, proporcionando alivio y confort a los pacientes que han recibido radioterapia o terapia con metotrexato, así como en el caso de úlceras orales recurrentes. Esto se debe a las propiedades terapéuticas que poseen sus componentes químicos. Sus efectos antioxidantes son capaces de inhibir los radicales libres y reducir los niveles de IL-1b y TNF-, lo que provoca una mejoría histopatológica y clínica. (Fortuna et al., 2022; Gomes et al., 2018)

2.1.4. Enjuagues bucales

Es una solución diseñada para preservar la higiene bucal y eliminar las bacterias que habitan en la cavidad oral. Desde una perspectiva más técnica, se puede decir que los enjuagues bucales son soluciones acuosas o hidroalcohólicas formuladas para aplicar sobre las mucosas orales, con el fin de limpiar y refrescar dicha área. (Sánchez, 2000)

Su formulación incluye principios activos que otorgan propiedades antisépticas, antiplaca, anti-caries, cicatrizantes o desensibilizantes.

- **2.1.4.1.** Componentes. Los enjuagues bucales tienen una composición parecida a la de las pastas dentífricas, pero a diferencia de estos, no contienen agentes abrasivos. Según Sánchez (2000), los componentes más importantes de un enjuague bucal y sus funciones son:
- A. Detergentes o espumantes. Este componente proporciona una experiencia sensorial placentera en la boca durante su aplicación y contribuye a la formación de una suspensión estable del abrasivo, facilitando así una limpieza efectiva. Es fundamental que este componente cumpla con las siguientes características: debe ser no tóxico, no irritante para la mucosa oral y carecer de sabor. Entre los compuestos más comunes se encuentran el Lauryl sulfato de sodio, N-Lauryl sarcosinato de sodio, ricinoleato sódico y sulforicinoleato sódico, los cuales se emplean en concentraciones que oscilan entre el 1-3%.
- **B.** Humectantes. Evita la deshidratación mientras se aplica el producto. Los ingredientes utilizados principalmente: son la glicerina, el sorbitol, el polietilenglicol y el propilenglicol, en concentraciones que varían entre el 10-30%.
- C. Aromatizantes. Se usan para dar al usuario una sensación refrescante y agradable en la boca después de aplicar el producto. Entre los ejemplos se incluyen mentol, timol, eucaliptol, además de esencias de menta, canela, fresa y otros sabores.
- D. Edulcorantes. Se utilizan diversos aditivos para aportar un sabor dulce al enjuague, como la sacarina, el xilitol y los ciclamatos, los cuales se emplean en concentraciones que

oscilan entre el 1-2%.

- *E. Colorantes.* Son esenciales para proporcionar al consumidor características organolépticas que resulten atractivas a la vista. Se utilizan los mismos colorantes que se emplean en la industria alimentaria.
- *F. Conservantes.* Son fundamentales, especialmente en el caso de los enjuagues bucales que no contienen alcohol. Los compuestos más comúnmente empleados son benzoatos y parabenos, que se utilizan en concentraciones que varían entre el 0.1 al 0.5%.
- **2.1.4.2. Método de elaboración.** Los enjuagues bucales son soluciones, es decir, mezclas homogéneas de dos o más sustancias, tanto en términos químicos como físicos. Actualmente, estas soluciones son una de las formas farmacéuticas más simples y utilizada con frecuencia. En su mayoría, están formuladas para actuar como antisépticos tópicos.

El proceso de elaboración de estos productos, según lo propuesto por Cumbreño (2004), sigue unos pasos simples. En primer lugar, es necesario pesar o medir todos los ingredientes de la fórmula. Luego, se deben mezclar las tres cuartas partes del disolvente con los principios activos, agitando la mezcla hasta lograr su disolución total. Si los principios activos son sensibles al calor, se sugiere añadirlos y disolverlos en frío. Finalmente, en el supuesto de que alguno de los principios activos no se disuelva en el disolvente utilizado, será imprescindible disolverlo previamente en un disolvente apropiado.

Incorpore los componentes minoritarios, tales como conservantes, colorantes y saborizantes, y mezcle hasta lograr su total disolución. Luego, incorpore los espesantes también de manera gradual, asegurándose de mantener una agitación constante, tal como se indica en la formula. Mezcle hasta obtener una solución homogénea; si es necesario, filtre la mezcla. Complete la solución añadiendo el disolvente restante hasta alcanzar el volumen total indicado en la fórmula. Finalmente, acondicione la mezcla en el envase adecuado y realice los controles de calidad pertinentes, que incluyen análisis organolépticos, fisicoquímicos y microbiológicos.

2.1.4.3. Enjuague bucal a base de manzanilla. Los componentes de la manzanilla confieren al enjuague bucal sus características óptimas. Este producto no causa manchas ni alteraciones en el gusto, no es tóxico y puede ser utilizado por personas de todas las edades, sin provocar efectos secundarios. Los ingredientes medicinales se extraen de flores secas y se elabora en forma de infusión, aceite o extractos florales. El enjuague bucal de manzanilla ayuda a prevenir la formación de bacterias, ya que reduce la presencia de microorganismos formadores de placa bacteriana. (Fortuna et al., 2022; Morales Bozo et al., 2015; Cárcamo et al., 2011)

En el mercado latinoamericano ya existen productos que combinan esta hierba con otros ingredientes para un óptimo cuidado bucal, de los cuales son:

En Colombia, la marca Belatec ofrece enjuagues bucales de alta calidad que no contienen ingredientes perjudiciales. Muchos enjuagues bucales comerciales contienen ingredientes potencialmente perjudiciales, como alcohol, parabenos y colorantes artificiales, que pueden causar irritación y sensibilidad oral a largo plazo. Por eso, han elaborado un enjuague llamado Natutec que contiene extractos a base de manzanilla, romero, caléndula y té verde, es una formula antiirritante y antioxidante que protege dientes y encías.

En Ecuador, el enjuague bucal de Encident Professional para brackets es una excelente opción para mantener la salud bucal durante el tratamiento de ortodoncia. Su fórmula, enriquecida con clorhexidina, xilitol y manzanilla, ofrece una triple acción antibacterial. Esto no solo elimina las bacterias de manera prolongada, sino que también ayuda a prevenir la sensibilidad dental.

Atuk es una empresa que se dedica a la creación de productos de higiene oral que son naturales, saludables y respetuosos con el medio ambiente. Entre sus innovaciones, se encuentra un enjuague bucal que combina extracto de árbol de té y manzanilla, conocido por sus propiedades antiinflamatorias y purificantes. Este enjuague ofrece una efectiva protección

contra diversas afecciones y enfermedades bucales.

Denika Natural & Eco Products es una tienda online en Quito, Ecuador, que elabora productos de higiene y cuidado personal naturales y ecológicos con ingredientes orgánicos de calidad. Tiene un enjuague bucal antibacterial y antiinflamatorio que contiene extractos naturales de menta, manzanilla, salvia, tomillo y clavo. Regula el pH de la boca, ayuda a combatir el mal aliento, gingivitis y caries dental. También desinflama y blanquea los dientes.

El Laboratorio Farmacéutico Lamosan tiene amplia gama de medicamentos odontológicos y médicos que se distribuye en cuatro países (Bolivia, Colombia, Ecuador y Perú), uno de los productos es Ortodent Brackets un enjuague bucal que contiene extracto de manzanilla, xylitol al 6% y flúor. Este producto está destinado a pacientes con tratamiento de ortodoncia, ya que el uso de brackets puede favorecer la acumulación de placa bacteriana. Aprovecha los beneficios de la manzanilla, que ayuda a prevenir la acumulación de placa dentobacteriana alrededor de los brackets y reduce las inflamaciones gingivales causadas por los microorganismos que pueden perjudicar el periodonto.

2.1.5. Clorhexidina

La clorhexidina se destaca como el agente antimicrobiano más efectivo y seguro, gracias a su alta capacidad de absorción en las superficies dentales. Ayuda a reducir el crecimiento y metabolismo del biofilm dental, así como el potencial de adherencia de microorganismos. Es capaz de disminuir los microorganismos patógenos, como *Streptococcus mutans*, así como la placa dental. Los efectos secundarios de la clorhexidina incluyen sequedad y ardor en la boca, decoloración de los dientes y cambios en el gusto. No se recomienda su uso prolongado por sus efectos secundarios, pese a ser un excelente antimicrobiano. (Gaete et al., 2012; Alburquerque et al., 2010)

Por lo tanto, se debe considerar otra alternativa, pudiéndose utilizar extractos de plantas como agentes antibacterianos. La Matricaria chamomilla (manzanilla) es tan eficaz como la

clorhexidina contra ciertos microorganismos formadores de biofilm y no posee efectos adversos para la cavidad bucal. (Garg et al., 2023; Naghsh et al., 2023)

2.1.6. Streptococcus mutans

La cavidad oral, debido a su estructura, temperatura y niveles de oxígeno, proporciona un entorno propicio para una gran variedad de microorganismos. Más de 700 especies microbianas constituyen el microbiota normal que habita en nuestra boca, y estas especies son esenciales para mantener el equilibrio de nuestra salud bucal. No obstante, cuando se presenta un desequilibrio en este microbiota, las bacterias anaerobias facultativas son las primeras en colonizar. Un ejemplo de ello es el *Streptococcus mutans*, que posee la capacidad de sobrevivir tanto en condiciones de presencia como de ausencia de oxígeno, aunque su crecimiento óptimo se desarrolla en ambientes anaerobios. Este microorganismo, un coco Gram positivo y productor de ácido láctico, convierte un pH neutro en un pH ácido, lo que propicia la desmineralización de las estructuras duras del diente. (Guven et al., 2019)

El *Streptococcus mutans* se considera uno de los patógenos cariogénicos más relevantes, con la capacidad de adoptar diversas morfologías en función del ambiente al que se exponga. En condiciones ácidas, se presenta como un coco bacilo en forma ovalada, mientras que en un medio alcalino adquiere una apariencia redonda, similar a la de un coco. Se encarga de metabolizar los carbohidratos fermentables y sintetizar una matriz de polisacárido extracelular que permite al organismo adherirse firmemente a la superficie del diente y provocar la descalcificación de la estructura dental. (Acosta y Armas, 2022)

Una vez que ocurre la erupción, esta bacteria se asienta de manera permanente en la cavidad oral, ya que necesita la presencia de tejido duro no descamativo para colonizar y formar parte de la flora microbiana oral. Por ello, puede encontrarse tanto en pacientes que no presentan caries como aquellos que si las tienen. La colonización de esta bacteria se produce alrededor de los 26 meses de edad, un período que se conoce como la ventana de infectividad.

(Gamboa, 2014)

2.1.7. Susceptibilidad antimicrobiana

El análisis de la susceptibilidad antimicrobiana es un proceso que permite determinar la eficacia in vitro de un antibiótico especifico frente a un microorganismo determinado. Este examen proporciona información sobre la capacidad del antibiótico para inhibir el crecimiento de una bacteria o población bacteriana. Para realizar la evaluación, se pueden emplear tres técnicas diferentes:

- 2.1.7.1. Método de difusión. Conocido también como antibiograma disco-placa o método de Kirby-Bauer, este procedimiento consiste en inocular un microorganismo en la superficie de una placa de agar. Posteriormente, se colocan discos impregnados con diferentes concentraciones del antimicrobiano en la placa. Tras un periodo de incubación de 18 a 24 horas, se puede observar una zona de crecimiento inhibido alrededor de cada disco, conocida como "halo de inhibición". El diámetro de esta zona es fundamental para determinar la sensibilidad o resistencia del microorganismo al antimicrobiano utilizado. (Mühlhauser y Rivas, 2014)
- 2.1.7.2. Método de la Epsilometría o E-test. Se propone un método alternativo para el estudio cuantitativo de la sensibilidad antimicrobiana, que simplifica la determinación de la concentración inhibitoria mínima (CMI). Este procedimiento implica la utilización de una tira de plástico impregnada con concentraciones ascendentes del antimicrobiano, la cual se posiciona sobre una placa de agar que ha sido inoculada previamente con el microorganismo en cuestión. A medida que el agente antimicrobiano se difunde en el medio de cultivo, se observa una inhibición del crecimiento bacteriano circunscrita alrededor de la tira. La concentración inhibitoria mínima (CIM) se determina en el punto en el que el crecimiento bacteriano alcanza la tira. (Picazo et al., 2000)
- **2.1.7.3. Métodos de dilución.** Estos métodos son ideales para cuantificar la actividad antimicrobiana. Se pueden realizar diluciones en medio sólido (agar) o en medio liquido

(caldo), lo que permite determinar tanto la concentración mínima bactericida (CMB) como la concentración mínima inhibitoria (CIM).

En el método de dilución en caldo, se emplean tubos o microplacas (microdilución) que contienen concentraciones ascendentes del antimicrobiano. Posteriormente, se inocula el microorganismo en los diferentes tubos o pozos de las microplacas. Tras el periodo de incubación, es factible establecer la concentración mínima inhibitoria (CMI).

Por otro lado, en el método de dilución en agar, se emplean placas que se siembran en profundidad con el agente antimicrobiano. Después, se inocula el microorganismo y se incuba durante 24 horas. Al finalizar este periodo, se examina el crecimiento del microorganismo en cada placa. Sin embargo, una de las desventajas más importantes de este método es la cantidad de muestras que es necesario evaluar. (Mühlhauser y Rivas, 2014)

III. MÉTODO

3.1. Tipo de investigación

El presente trabajo de investigación consiste en un estudio longitudinal, comparativo, experimental y prospectivo.

3.2. Ámbito temporal y espacial

Se llevó a cabo en el Laboratorio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, en las instalaciones del Centro de Control Analítico, que también es conocido como Cenprofarma.

3.3. Variables

3.3.1. Variable dependiente

Efecto antibacterial sobre Streptococcus mutans

3.3.2. Variable independiente

Enjuague bucal elaborado de extracto etanólico de Matricaria chamomilla (manzanilla)

3.3.3. Grupo de control positivo

Enjuague de clorhexidina 0.12%

3.3.4. Operacionalización de las variables

Variables	Definición	efinición Indicadores		Valor
	Solución concentrada a base	Porcentajes de disolución		25%
Enjuague bucal	de manzanilla, cuyas	del enjuague bucal		50%
elaborado de extracto	propiedades presentan	elaborado de extracto	Nominal	75%
etanólico de	efectividad antibacteriana	etanólico de manzanilla		100%
Matricaria chamomilla				
(manzanilla)				
	Es la habilidad para detener	Tamaño del diámetro del	Razón	Diámetro del halo de
	el crecimiento de las	halo de inhibición que se	Continua	inhibición (0-mm.)
Efecto antibacterial	bacterias debido a la acción	genera alrededor del disco		
	de un agente antibacteriano			

3.4. Población y muestra

3.4.1. Población

Cepas de la bacteria anaerobia facultativa *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), obtenidas en el laboratorio de GenLab, ubicado en el distrito de Lince, Perú.

3.4.2. Muestra

La magnitud de la muestra fue determinada empleando la fórmula pertinente para la comparación de medias, fundamentada en los datos de la investigación de Sebastiani y Bances (2021).

$$n = (2(z\alpha+z_{\beta})^2 s^2) / (x_{1}-x_{2})^2$$

Dónde:

n: tamaño de muestra para el grupo de estudio.

Zα: Valor Z correspondiente al riesgo deseado (error tipo I).

Zβ: Valor Z correspondiente al riesgo deseado (error tipo II).

S: Desviación estándar grupo control

X₁ - X₂: Valor mínimo de la diferencia que se desea detectar.

$$n = ([2(1.96+0.84)]^2 [(0.8)]^2) / [(14.86-13.99)]^2$$

n = 13.25

n=13

Siendo n = el número de repeticiones a efectuar en cada investigación

 $Z\alpha = 1.96$ para $\alpha = 0.05$

 $Z\beta = 0.84$ para $\beta = 0.20$ o una potencia del 80%

S = 0.8

Por ello, se realizó 13 repeticiones para cada concentración del enjuague bucal a base de extracto etanólico de Matricaria chamomilla, así como para los controles: positivo (clorhexidina 0.12%) y negativo (agua destilada).

3.4.3. Muestreo

La unidad de análisis corresponde a un microorganismo especifico de interés para el estudio, en este caso, se trata de la especie aislada el *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

3.4.4. Criterios de selección

3.4.4.1. Criterios de inclusión. Son los siguientes:

- Se requieren placas que sean adecuadas para la siembra de *Streptococcus mutans*
- Se requieren placas que con el proceso de incubación muestren halos de inhibición bajo condiciones adecuadas

3.4.4.2. Criterios de exclusión. Son los siguientes:

- Las placas Petri, tras el proceso de incubación, no mostraron halos de inhibición en condiciones óptimas.
 - Se excluyen de esta investigación todos los demás tipos de bacterias.

3.5. Instrumentos

El instrumento utilizado para esta investigación fue el calibrador de Vernier digital y también se emplearon diversos materiales, insumos y equipos.

3.5.1. Materiales

- Asa de Drigalsky de vidrio
- Asa bacteriológica
- Baguetas de vidrio
- Discos de papel Whatman N°42
- Embudo Büchner
- Envase con capacidad de 1 L
- Espátulas
- Escala de Mac Farland
- Frascos de vidrio de 200 mL de capacidad con tapa rosca

- Frascos de vidrio de 500 mL de capacidad con tapa rosca
- Frascos ámbar esterilizados
- Gradilla
- Indicador multiparámetro de esterilización.
- Matraz Kitasato
- Micropipeta calibrada de 0.5-5 mL
- Micropipeta calibrada de 20-200 μL
- Mortero
- Papel kraft
- Parafilm
- Pipeta Pasteur
- Placas de Petri de vidrio 90 mm de diámetro x 15mm de altura
- Placas de vidrio
- Probeta volumétrica de 100 mL
- Probeta volumétrica de 500 mL y 50 mL
- Puntas para micropipeta de 0.5-5 mL
- Puntas para micropipeta de 20-200 μL
- Sacabocado con diámetro interno de 6mm
- Tubos 150 mm con tapa rosca
- Vasos de precipitado
- Viales de vidrio de 5mL de capacidad
- Viales de vidrio de 10 mL de capacidad

3.5.2. Insumos

- **3.5.2.1. Medios de cultivo.** Se emplearon los siguientes medios de cultivo.
- Agar de cerebro-corazón marca Merck

- Agar Mueller Hinton marca Merck
- Caldo de cerebro-corazón marca Merck

3.5.2.2. Medio biológico. Se usó la siguiente planta.

- Flores de Matricaria chamomilla "manzanilla"
- **3.5.2.3. Inóculo.** Se uso la siguiente cepa.
- Streptococcus mutans cepa ATCC 25175
- **3.5.2.4. Reactivos.** Se usaron los siguientes reactivos.
- Agua destilada
- Alcohol 96°
- Clorhexidina 0.12%
- Etanol a 96°
- Cloruro de sodio grado bacteriológico marca Oxoid
- Emal (lauril éter sulfato de sodio)
- Glicerina
- Sorbitol
- Sacarina Sódica

3.5.3. *Equipos*

- Autoclave Vertical Digital EQ-CCA-054 Reles AL/D 50L S: 476-15
- Agitador magnético
- Balanza analítica EQ-CCA-037 AND HR 250 AZ S: GA7702480
- Baño María EQ-CCA-009 Memmert WNE-10 S: L307.0363
- Estufa EQ-CCA-001 Memmert UN55 S: B215-2490
- Incubadora 37 °C EQ-CCA-026 Labor LP-11 S: 69-6315/4
- Mechero Bunsen
- Pipeta volumétrica

• Potenciómetro EQ-CCA-005 Inolab 730 S: 10380849

3.6. Procedimientos

La técnica empleada para determinar la eficiencia antimicrobiana se llevó a cabo empleando el procedimiento de difusión en placa, conocido como el método de Kirby Bauer. Este método posibilita la evaluación in vitro de la efectividad de un antibiótico especifico contra un microorganismo, analizando su habilidad para inhibir el crecimiento de una bacteria o un grupo de bacterias. Igualmente, este procedimiento se ha modificado para determinar la potencia de una muestra vegetal que posea propiedades antimicrobianas frente a ciertos microorganismos. (Cavalieri et al., 2005)

3.6.1. Recolección de la muestra

La muestra vegetal fue obtenida en la provincia de Tarma, específicamente en el distrito de Acobamba ubicado en el centro poblado de Picoy, departamento de Junín, Perú. Se recogió alrededor de 1 kilo de flores frescas y bien lavadas, las cuales fue trasladadas a la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM). Posteriormente, la muestra también fue enviada al departamento de herbario del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para la elaboración del informe taxonómico correspondiente. (Anexo C)

3.6.2. Elaboración del extracto etanólico de Matricaria chamomilla

Una vez recepcionada la muestra, se procedió a la eliminación de impurezas (cualquier partícula diferente a la muestra) y se extendió total de la muestra sobre una hoja de papel kraft por 24 horas. El cual se colocó en una estufa configurada por 48 horas a 40°C y se redistribuyó la muestra dentro de un sobre de papel kraft, hasta obtener un peso constante.

La elaboración del extracto etanólico con ayuda de un mortero, se procedió a triturar las flores de manzanilla (Matricaria chamomilla) y con un p/v de 1:10, se pesó aproximadamente 100 g de la muestra triturada y en una probeta volumétrica se calculó 1000

mL \Leftrightarrow 1 L de etanol a 96°. En un frasco ámbar se mezcló los 100 g (aproximadamente) de flores de manzanilla (Matricaria chamomilla) con los 1000 mL de etanol a 96° y se selló el frasco con Parafilm y durante 30 minutos a temperatura ambiente se colocó el frasco con solvente y muestra en el ultrasonido, este procedimiento que contribuye a mejorar tanto el rendimiento como la calidad de los compuestos que se desean extraer.

Al finalizar, se rotuló el frasco con los correspondientes datos y fecha de inicio de maceración y se almacenó el frasco en un ambiente cerrado y fresco durante 15 días para una adecuada maceración. Transcurridos los 15 días, se continuó con la filtración. Posteriormente, se procedió a armar el equipo para la filtración: Bomba de vacío, embudo Büchner, matraz Kitasato y papel Whatman N°42. La solución macerada fue vertida al embudo manteniendo una agitación constante. Una vez culminada la filtración, el extracto se dividió en 2 placas de vidrio. Ambas placas se mantuvieron en estufa por 2 días a 35°C, hasta observar una reducción del volumen. Culminada la reducción del volumen, se procede a la preparación final de los extractos etanólicos de flores de manzanilla (Matricaria chamomilla). Finalmente, se obtuvieron extractos etanólicos de flores de manzanilla (Matricaria chamomilla) al 100%, 75%, 50% y 25%.

3.6.3. Enjuague de extracto etanólico de Matricaria chamomilla

En la elaboración se consideraron las materias primas más primordiales: un agente tensioactivo o detergente (lauril éter sulfato de sodio), agentes humectantes (sorbitol y glicerina), un edulcorante (sacarina sódica), y el componente activo (extracto etanólico de la manzanilla al 25%, 50%, 75% y 100%).

Sustancia	Porcentaje	Cantidad
Emal (lauril éter sulfato de sodio)	3,75%	3g
Glicerina	18,38%	14,7mL
Sorbitol	5,63%	4,5mL
Sacarina Sódica	0.04%	0,032g
Alcohol 96°	6,25%	5mL
Extracto etanólico de Manzanilla	25%, 50%,75%,100%	10 mL
Agua Destilada	33,88%	c.s.p. 80 mL

Se inició pesando 4 veces 0.032 g de sacarina sódica y en un vaso precipitado pesamos 3 g de lauril sulfato de sodio y agregamos 14.7 mL de glicerina. Realizamos el mismo procedimiento para tres enjuagues bucales más, en diferentes vasos de precipitado. Colocamos el vaso precipitado en un agitador magnético a 800 rpm durante 10 minutos. Gradualmente, añadimos ¾ partes de 80 mL de agua destilada como disolvente, junto con 0.032 g de sacarina sódica, que habíamos pesado previamente. Mantenemos la mezcla en agitación durante 5 minutos, hasta lograr una disolución completa de todos los componentes. Antes de culminar los 5 minutos se agrega al vaso de precipitado 4.5 mL de sorbitol, 5 mL de alcohol de 96° y 10 mL del extracto etanólico de Matricaria chamomilla (100%). Luego, llevamos a cabo el envasado y etiquetado del enjuague bucal en un frasco de vidrio. Este mismo procedimiento se repitió para las concentraciones del 75%, 50% y 25%. Al finalizar el envasado, es importante dejar reposar los enjuagues bucales durante 24 horas, con el objetivo de permitir que la espuma generada durante el proceso de elaboración se disipe. Como resultado, se obtuvieron cuatro enjuagues bucales de extracto etanólico de Matricaria chamomilla con concentraciones del 100%, 75%, 50% y 25%.

3.6.4. Fase pre analítica

3.6.4.1. Preparación de materiales. Primero, las placas Petri se envolvieron en papel

kraft y se esterilizaron utilizando calor seco en una estufa a 180° C durante 2 horas. En cuanto a las puntas de micropipetas, los viales de vidrio y los tubos con tapa rosca fueron sometidos a un proceso de esterilización por calor húmedo en autoclave a una temperatura de 121°C y una presión de 15 lb/pg² durante 15 minutos.

3.6.4.2. Obtención de la cepa. La cepa utilizada en este estudio corresponde a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, la cual fue adquirida del Laboratorio GenLab, ubicado en el distrito de Lince, Lima, Perú. Esta elección se fundamenta en que el laboratorio cuenta con los certificados de análisis que avalan tanto la calidad como la correcta distribución de la cepa bacteriana.

3.6.4.3. Preparación de los medios de cultivo. Se prepararon 20 mL de caldo de cerebro-corazón, siguiendo meticulosamente las indicaciones del fabricante, mediante la utilización 37 gramos para cada litro de agua destilada. Esta mezcla fue distribuida en dos tubos de ensayo, los cuales fueron esterilizados en autoclave. Posteriormente, se elaboraron 100 mL de agar de cerebro-corazón, de acuerdo con las instrucciones del fabricante, añadiendo 52 gramos a un litro de agua destilada en un frasco de vidrio, el cual fue también esterilizado en autoclave. Una vez que el agar estuvo debidamente esterilizado, se enfrió en baño María a una temperatura de 45-50 °C antes de ser vertido en placas Petri estériles.

A continuación, se prepararon 0.7 litros de agar Mueller Hinton en un frasco de vidrio, siguiendo las indicaciones del fabricante, que estipulan la adicción de 34 gramos para cada litro de agua destilada. Este agar fue sometido a un proceso de esterilización en autoclave a 121°C y 15 lb/pg² durante 15 minutos, y posteriormente se mantuvo en baño María a una temperatura de 45 – 50 °C. Una vez alcanzada la temperatura adecuada, se vertió el agar tibio en placas Petri de vidrio estériles, creando una capa uniforme de aproximadamente 4 mm de grosor, lo que equivale a unos 25- 30 ml para placas de 90 mm de diámetro. El agar ya plaqueado se dejó solidificar a temperatura ambiente. Es de suma importancia verificar que el pH de cada lote de

agar Mueller Hinton se encuentre 7,0-7,6; dicha medición puede realizarse sumergiendo el bulbo del electrodo del potenciómetro en el agar antes del proceso de autoclave. Finalmente, se prepararon 100 mL de suero fisiológico estéril, para lo cual se pesaron 900 mg de cloruro de sodio grado bacteriológico, completando el volumen con agua destilada hasta alcanzar 10 mL. Esta solución fue luego esterilizada en autoclave y distribuida en volúmenes de 10 mL en cuatro tubos estériles.

3.6.4.4. Activación de la cepa. La cepa fue aislada en condiciones de refrigeración, mantenida a una temperatura comprendida entre 4-8°C, en placas que contenían agar de cerebro-corazón. Posteriormente, se llevó a cabo la recolección de una colonia mediante el uso de un asa bacteriológica, la cual fue sembrada en tubos que contenían caldo de cerebro-corazón estéril. Estos tubos fueron incubados a 37°C durante un periodo de 24 horas. Al finalizar dicho intervalo, se observó la presencia de turbidez, lo cual indica el crecimiento de la cepa. A continuación, se procedió a sembrar en placas con agar de cerebro-corazón, las cuales fueron incubadas nuevamente a 37°C durante 24 horas.

3.6.4.5. Preparación de la muestra. Se elaboró un enjuague bucal a partir de extracto etanólico de manzanilla, el cual se preparó en cuatro concentraciones: 100 %, 75 %, 50 % y 25 %.

3.6.5. Fase analítica

3.6.5.1. Preparación del inóculo. Se tomaron colonias puras del microorganismo Streptococcus mutans ATCC 25175, se extrajo una cantidad especifica de estas colonias y se dispersaron en tubos de ensayo que contenían 10 mL de suero fisiológico estéril (solución salina al 0.9%). Las soluciones obtenidas fueron diluidas hasta alcanzar una turbidez similar a la del tubo N°1 de la escala de McFarland, la cual es una serie de tubos con niveles de turbidez creciente, utilizada para estimar la concentración aproximada de una solución bacteriana. Esta turbidez indica una concentración de 3x108 UFC/mL. A partir de estas soluciones, se realizaron

diluciones en una proporción de 1 a 3. Para esto, se tomaron 3 mL de las soluciones preparadas y se diluyeron en un volumen total de 9 mL de suero fisiológico en tubos con tapa rosca. Es crucial asegurar que todos los materiales utilizados permanezcan estériles, así como el área de trabajo. Las soluciones finales presentaron una concentración de 1x10⁸ ufc/ml.

3.6.5.2. Inoculación de las placas. Se adicionó 100 uL de cada inóculo bacteriano preparado (1x10⁸ ufc/ml) a un total de 13 placas que contenían medio de cultivo Agar Mueller Hinton. Con la asistencia de una espátula de Drigalsky, se procedió a esparcir los inóculos de manera uniforme sobre la superficie de las placas, garantizando así un crecimiento homogéneo. El asa se deslizó sobre la superficie de la placa de manera paralela y compacta, abarcando la totalidad del área. Posteriormente, se procedió a repetir el procedimiento, rotando la placa 60° en dos ocasiones adicionales. Se prestó especial atención para sembrar de borde a borde las placas, dado que cualquier error podría comprometer la precisión de las lecturas. Finalmente, se permitió que las placas se secaran durante un periodo de 3 a 5 minutos antes de proceder a la colocación de los discos.

3.6.5.3. Formación de los pocillos. El sacabocado fue sometido a un proceso de esterilización mediante la aplicación de alcohol, seguido de un tratamiento de flameado utilizando un mechero. Con sumo cuidado, se elaboraron los pocillos, creando seis por cada placa en un total de 13 placas Petri destinadas al análisis del enjuague bucal a partir de extracto etanólico de manzanilla. Los pocillos se distribuyeron de manera uniforme, a una distancia de 15 mm del borde de la placa, con el propósito de prevenir cualquier sobreposición de los halos de inhibición.

3.6.5.4. Sembrado de las muestras y controles. Se emplearon un total de 13 placas para la realización de las muestras, las cuales contemplaron un control positivo, un control negativo y cuatro concentraciones del enjuague bucal a base de extracto etanólico de manzanilla. En total, se dispusieron 6 pocillos en cada una de las 13 placas Petri. Para cada muestra y

controles se sembraron añadiendo 40 uL en cada pocillo. Para el control negativo, se utilizó agua destilada, mientras que el control positivo correspondió al producto PERIO - AID, que contiene clorhexidina al 0.12%.

3.6.5.5. Incubación. Las 13 placas correspondiente a las diluciones de la muestra, así como los controles, fueron incubados a 37°C durante un periodo de 24 y 48 horas.

3.6.6. Fase post analítica

A las 24 y 48 horas de incubación, se realizó una inspección detallada de cada placa. Las zonas de inhibición observadas deben tener una forma circular y uniforme sobre una capa homogénea de crecimiento bacteriano. Con el fin de determinar los diámetros de cada zona de inhibición, se procedió a realizar mediciones en milímetros a través del centro de cada pocillo. Esta medición se efectuó en tres veces para cada pocillo. Posteriormente, se calcularon los promedios de las mediciones y se redondearon a números enteros para su correspondiente reporte.

3.6.7. Técnica de medición

Se siguió los siguientes pasos para la medición son:

- **3.6.7.1.** Cultivo celular. Es la técnica de análisis in vitro donde se permite el crecimiento de células o microorganismos en un ambiente controlado fuera del organismo humano.
- 3.6.7.2. Método de difusión de disco placa. El antibiograma mediante el método de disco placa es un procedimiento utilizado para determinar la sensibilidad de los microorganismos a diferentes antibióticos. Este proceso se llevó a cabo a través de las siguientes fases.
- *A. Preparación*. En una placa de Petri, se procedió a inocular el microorganismo sobre la superficie del medio de cultivo de agar. Posteriormente, se colocaron discos de papel secante impregnados con diferentes antibióticos sobre el medio de cultivo de agar.

B. Difusión. Cuando el disco impregnado de antibiótico tocó la superficie húmeda del agar, el filtro del disco comenzó a absorber agua, lo que facilitó la difusión radial del antibiótico a través del espesor del agar. Este proceso genera un gradiente de concentración alrededor del disco.

C. Zona de inhibición. Tras un periodo de incubación de 18-24 horas, se pudo constatar que los discos se encontraban circundados por una zona de inhibición. Esta región pone de manifiesto el efecto del antibiótico sobre el crecimiento bacteriano. La concentración de antibiótico en la interfase entre las bacterias en crecimiento y aquellas que han sido inhibidas se denomina concentración crítica, la cual se aproxima a la concentración mínima inhibitoria (CMI) que se obtiene a través de otros métodos de dilución.

3.6.7.3. Medición del halo de inhibición. Se toma lectura de medición en milímetros siguiendo los siguientes pasos.

A. Revisión de la placa. Se examinó la placa con atención después de sacarla de la incubadora. Nos aseguramos de que el crecimiento bacteriano fuese uniforme y cubra toda la superficie, sin áreas vacías. Esto te permitió identificar fácilmente las zonas sin crecimiento bacteriano (zonas de inhibición).

B. Medición de las zonas de inhibición. Se sostuvo la placa a unos pocos centímetros de una superficie negra que no refleje la luz. Se empleó un calibrador Vernier para llevar a cabo la medición del diámetro de las zonas de inhibición, redondeando posteriormente la medida al milímetro más cercano.

3.7. Análisis de datos

Se empleo el software Excel para diseñar de tablas y figuras, y posteriormente, los resultados se exportaron y analizaron utilizando el paquete estadístico SPSS® (Statistical Package for the Social Sciences). Se realizaron análisis estadísticos descriptivos para identificar las propiedades estadísticas de los datos. También se llevó una evaluación de la

40

prueba de normalidad con el propósito de determinar si se debían utilizar estadísticas

paramétricas y la varianza de un factor ANOVA, analizando la significancia de las

diferencias con un p \leq 0,05. Los resultados se analizaron en dos fases:

3.7.1. Resultados descriptivos

Se utilizaron medidas de tendencia central y de dispersión para analizar el

comportamiento de la variable dependiente investigada. Los resultados obtenidos se agruparon

por niveles, de acuerdo con el rango de respuesta, lo que requirió el cálculo de los siguientes

datos.

Media muestral de respuesta: promedio de frecuencias de repuestas

Mediana

Máximo: valor máximo respondido

Mínimo: valor mínimo respondido

3.7.2. Resultados inferenciales

Se llevó a cabo la prueba de hipótesis de correlación de datos, comenzado con la prueba

de normalidad de Shapiro Wilk, seguido la prueba de homogeneidad utilizando la prueba de

Levene. Sin embargo, a pesar de que los datos no cumplen el supuesto de homogeneidad

emplearemos la prueba de Anova. Para ello, nos respaldamos en Montgomery (2017) quien

establece que el Anova clásico puede tolerar cierta heterogeneidad de varianzas, siempre que

los tamaños de muestra sean similares entre los grupos. Aplicamos la prueba post hoc de Games

- Howell que permite analizar la comparación de medias entre pares. Finalmente, para realizar

la comparación entre los tiempos, se llevó a cabo la prueba de Student para muestras

relacionadas, y se evaluó el efecto utilizando la d de Cohen's.

3.8. Consideraciones éticas

El presente trabajo se llevó a cabo siguiendo estrictamente las normas establecidas por

los comités de ética de la Universidad Nacional Federico Villarreal y de la oficina del Centro

de Control Analítico (CCA), conocido también como Cenprofarma, que pertenece a la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Se envió toda la documentación requerida de manera completa y clara a la oficina del Centro de Control Analítico (CCA). Para la investigación, se optó por un procedimiento sencillo y adaptable, diseñado para evitar cualquier tipo de riesgo o daño. El instrumento utilizado para la recolección de datos fue creado con el objetivo de cumplir de manera precisa y objetiva con las metas planteadas. Siguiendo lo establecido en la Declaración de Helsinki, este estudio cumplió con las regulaciones éticas relacionadas con las buenas prácticas en laboratorio y con la bioseguridad, tanto en los espacios donde se llevó a cabo la investigación como fuera de ellos. No hubo conflicto de intereses, puesto que todos los insumos y herramientas fueron suministrados por el laboratorio, lo cual aseguró que los resultados alcanzando fueron exactos y dignos de confianza, preservando además la confidencialidad y la objetividad en los hallazgos.

IV. RESULTADOS

En la primera sección, exponemos los resultados descriptivos sobre el efecto del enjuague bucal elaborado de extracto etanólico de Matricaria chamomilla en concentraciones del 25%, 50%, 75%, 100% y clorhexidina al 0.12% frente al *Streptococcus mutans spp.* in vitro, evaluados 24 horas y 48 horas. En la segunda sección, presentaremos los resultados inferenciales que nos permitirán contrastar la hipótesis planteada.

4.1. Resultados descriptivos

En la tabla 1 se muestran los hallazgos que comprenden métricas de tendencia central, como la media y la mediana, junto a las medidas de dispersión, que incluyen la desviación estándar, además de los valores mínimo y máximo, de las 13 muestras recolectadas. Las muestras fueron evaluadas con respecto al efecto de un enjuague bucal que contiene extracto etanólico de Matricaria chamomilla a concentraciones del 25%, 50%, 75%, 100% y clorhexidina al 0.12% frente al *Streptococcus mutans spp.* in vitro a 24 horas y 48 horas.

Tabla 1

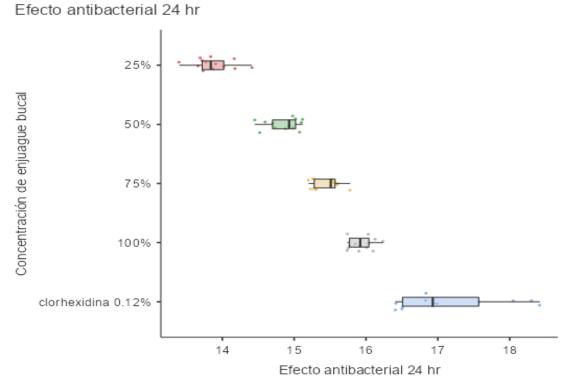
Medidas descriptivas del efecto antibacterial a las 24 horas y 48 horas del enjuague bucal que contiene extracto etanólico de Matricaria chamomilla (25%, 50%, 75% y 100%) y la clorhexidina al 0.12% frente el Streptococcus mutans

Efecto Antibacterial	Enjuague bucal	Media	Mediana	DE	Mínimo	Máximo
Efecto antibacterial	25%	13.9	13.8	0.266	13.4	14.4
a las 24 horas	50%	14.9	14.9	0.228	14.4	15.1
	75%	15.4	15.5	0.185	15.2	15.8
	100%	15.9	15.9	0.166	15.7	16.2
	clorhexidina 0.12%	17.1	16.9	0.716	16.4	18.4
Efecto antibacterial	25%	13.7	13.7	0.256	13.4	14.3
a las 48 horas	50%	14.7	14.7	0.246	14.3	15
	75%	15.3	15.3	0.193	15.1	15.7
	100%	15.8	15.8	0.166	15.6	16.1
	clorhexidina 0.12%	17	16.8	0.7	16.3	18.3

Nota. En esta tabla se observó que, a las 24 horas, la clorhexidina 0.12% reportó un incremento en el promedio del halo inhibitorio con (17.1 mm \pm 0.72 mm), seguido por enjuague bucal que contiene extracto etanólico de Matricaria chamomilla al 100 % el cual mostró un promedio del halo inhibitorio con (15.9 mm \pm 0.17mm), mientras que el enjuague bucal que contiene extracto etanólico de Matricaria chamomilla al 25 % mostró el promedio más bajo del halo inhibitorio con (13.9 mm \pm 0.27 mm). Al evaluar a las 48 horas, se volvió a observar que la clorhexidina 0.12% se observó un mayor promedio del halo inhibitorio con (17 mm \pm 0.7 mm), seguido por enjuague bucal que contiene extracto etanólico de Matricaria chamomilla al 100 %, el cual mostró un promedio del halo inhibitorio de (15.8 mm \pm 0.17mm). En cambio, el enjuague bucal que contiene extracto etanólico de Matricaria chamomilla al 25 % demostró una vez más el menor promedio del halo inhibitorio con un valor de (13.7 mm \pm 0.26 mm).

Figura 1

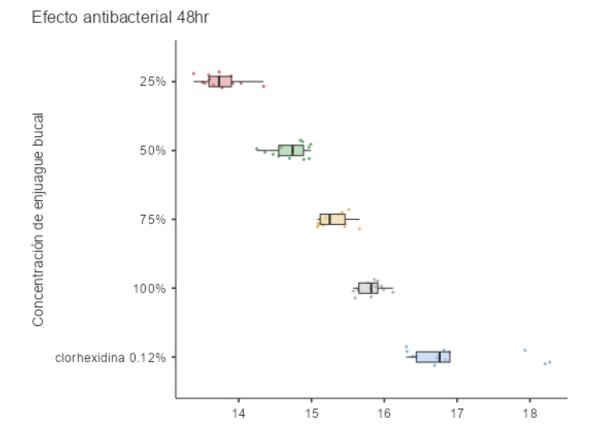
Distribución del comportamiento en diámetro del halo de inhibición a las 24 horas



Nota. En el gráfico, se observó que el efecto antibacteriano parece aumentar con la concentración del enjuague bucal. La clorhexidina al 0.12% tuvo un efecto antibacteriano más alto mientras el enjuague bucal a base de extracto etanólico Matricaria chamomilla al 25% y 50% presentaron un menor efecto antibacteriano, pero mostraron menor dispersión y presentaron valores más consistentes. Por otro lado, enjuague bucal a base de extracto etanólico Matricaria chamomilla al 75% y 100% tuvieron un mayor efecto antibacteriano, pero presentaron más variabilidad en sus valores.

Figura 2

Distribución del comportamiento en diámetro del halo de inhibición a las 48 horas



Nota. En el gráfico, se evidenció que la clorhexidina al 0.12% mostró un efecto antibacteriano significativamente mayor. Por otro lado, los enjuagues bucales a base de extracto etanólico de Matricaria chamomilla al 75% y 100% presentaron mejores resultados en cuanto al efecto antibacteriano, aunque con cierta variabilidad. En contraste, los enjuagues bucales a base extracto etanólico de Matricaria chamomilla al 25% y 50% mostraron un efecto más limitado, pero a su vez más consistente.

Efecto antibacterial 48hr

4.2. Resultados inferenciales

Con el objetivo de realizar el contraste de la prueba de hipótesis, se efectuaron la prueba de normalidad y la prueba de homogeneidad de varianzas. Esto permitió seleccionar adecuadamente la prueba estadística correcta que pueda comparar el efecto del enjuague bucal que contiene extracto etanólico de Matricaria chamomilla en diferentes concentraciones de 25%, 50%, 75%, 100% y la clorhexidina al 0.12% frente al *Streptococcus mutans spp.* in vitro

a 24 horas y 48 horas.

Tabla 2Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk de cada tipo del enjuague bucal antibacterial dentro de 24 horas y 48 horas

Efecto Antibacterial	Enjuague bucal	Estadístico	gl	P
Diámetro de halo de	25%	0.96	13	0.814
inhibición 24 horas	50%	0.91	13	0.185
	75%	0.90	13	0.135
	100%	0.93	13	0.342
	Clorhexidina 0.12%	0.85	13	0.025
Diámetro de halo de	e 25%	0.94	13	0.513
inhibición 48 horas	50%	0.92	13	0.256
	75%	0.91	13	0.154
	100%	0.96	13	0.761
	Clorhexidina 0.12%	0.79	13	0.006

Nota. En la tabla, se observó que p > 0.05, p representa la probabilidad que varía de 0 a 1.

Para los dos efectos antibacterial en las distintas concentraciones, a excepción de la clorhexidina 0.12% a las 48 horas (p = 0.006). Por lo tanto, se llegó a la conclusión de que los dos efectos medidos, correspondientes al diámetro del halo de inhibición a las 24 y 48 horas, mostraron una distribución normal. Seguidamente, se llevó a cabo la prueba de homogeneidad de varianzas de Levene, dado que la muestra no exhibe homocedasticidad (p < 0.05), lo que indica que las varianzas no son homogéneas. Sin embargo, a pesar de que los datos no cumplen el supuesto de homogeneidad se empleó la prueba de análisis de varianza (Anova).

Tabla 3

Comparación del efecto antibacterial del enjuague bucal que contiene extracto etanólico de Matricaria chamomilla (25%, 50%, 75% y 100%) y la clorhexidina al 0.12% sobre el Streptococcus mutans ATCC 25175 a las 24 horas y 48 horas

			Suma de	2	Media		
Efecto antibacterial			cuadrados	gl	cuadrática	F	p
Diámetro de halo	de	Entre grupos	76.78	4	19.19	137.64	<0.001
inhibición 24h		Dentro de grupos	8.37	60	0.139		
		Total	85.14	64			
Diámetro de halo	de	Entre grupos	75.64	4	18.91	138.95	< 0.001
inhibición 48h		Dentro de grupos	8.17	60	0.136		
		Total	83.81	64			

Nota. En la tabla, se realizó un análisis de varianza (Anova) en el que se observó que el valor de (p < 0.001) sugiere que existen diferencias estadísticas relevantes en el tamaño del halo de inhibición a las 24 horas y 48 horas entre los distintos enjuagues bucales. Esto demostró que la efectividad antibacteriana varía significativamente entre los enjuagues analizados.

 Tabla 4

 Comparaciones múltiples para el diámetro de los halos de inhibición 24 horas

Enjuague bucal	Diferencia de medias	p	IC 95%	
(I) - (J)	(I - J)		LI	LS
25% - 50%	-0.97846	< 0.001	-1.27	-0.69
25% - 75%	-1.56385	< 0.001	-1.83	-1.30
25% - 100%	-2.06538	< 0.001	-2.33	-1.81

25% - clorhexidina 0.12%	-3.25692	< 0.001	-3.91	-2.60
50% - 75%	-0.58538	< 0.001	-0.83	-0.34
50% - 100%	-1.08692	< 0.001	-1.32	-0.85
50% - clorhexidina 0.12%	-2.27846	< 0.001	-2.93	-1.63
75% - 100%	-0.50154	< 0.001	-0.70	-0.30
75% - clorhexidina 0.12%	-1.69308	< 0.001	-2.33	-1.05
100% - clorhexidina 0.12%	-1.19154	< 0.001	-1.83	-0.55

Nota. Se realizó la prueba post-hoc de comparaciones múltiples por pares de Games – Howell a las 24 horas, obteniéndose los siguientes valores (p < 0.001). Esto indicó que existió diferencias estadísticamente significativas en el diámetro del halo de inhibición entre todos los grupos comparados. Por otro lado, la clorhexidina al 0.12% destacó como el enjuague más efectivo en términos de diámetro del halo de inhibición, esto se dedujo observando la diferencia entre pares, ya que las variaciones comparadas con clorhexidina al 0.12% tuvieron mayor diferencia. Dado que el enjuague bucal al 100% se acercó más al efecto de la clorhexidina 0.12%, ya que presentó una diferencia menor que las otras concentraciones con la clorhexidina al 0.12%. Asimismo, la efectividad del enjuague bucal parece aumentar con su concentración, aunque las diferencias entre las concentraciones más altas (75% y 100%) fueron menores en magnitud.

 Tabla 5

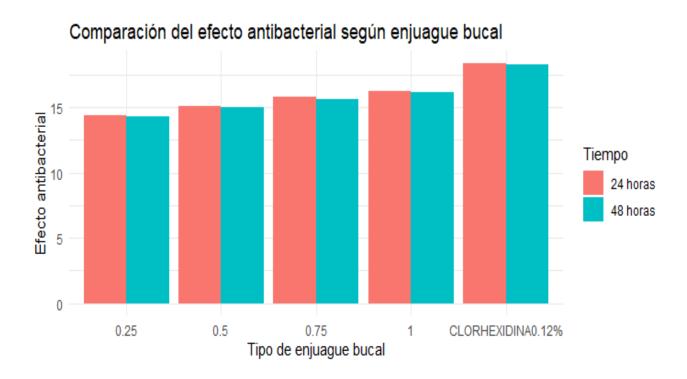
 Comparaciones múltiples para el diámetro de los halos de inhibición 48 horas

Enjuague bucal	Diferencia de medias	p	IC 95%	
(I) - (J)	(I - J)		LI	LS
25% - 50%	-0.963	< 0.001	-1.25	-0.67
25% - 75%	-1.553	< 0.001	-1.82	-1.29
25% - 100%	-2.070	< 0.001	-2.32	-1.82
25% - clorhexidina 0.12%	-3.224	< 0.001	-3.86	-2.59
50% - 75%	-0.590	< 0.001	-0.85	-0.33
50% - 100%	-1.107	< 0.001	-1.35	-0.86
50% - clorhexidina 0.12%	-2.261	< 0.001	-2.90	-1.62
75% - 100%	-0.517	< 0.001	-0.73	-0.31
75% - clorhexidina 0.12%	-1.671	< 0.001	-2.30	-1.04
100% - clorhexidina 0.12%	-1.154	< 0.001	-1.78	-0.53

Nota. Se realizó la prueba post-hoc de comparaciones múltiples por pares de Games – Howell a las 48 horas, indicando que todas las comparaciones tuvieron valores p < 0.001. Esto confirmó que existió diferencias estadísticamente significativas en todos los grupos comparados. Por otro lado, las diferencias en la efectividad del enjuague bucal elaborado de extracto etanólico de Matricaria chamomilla en concentraciones de 25% y 50% fueron más marcadas en comparación con el enjuague bucal elaborado de extracto etanólico de Matricaria chamomilla en concentraciones de 75% y 100%. Esto sugiere que la efectividad antibacteriana se estabiliza en las concentraciones más altas. De hecho, el enjuague bucal al 100% mostró un efecto similar al de la clorhexidina 0.12%, ya que presentó una diferencia menor que las otras concentraciones con la clorhexidina al 0.12%.

Figura 3

Comparación del efecto antibacterial del enjuague bucal a base extracto etanólico de Matricaria chamomilla (25%, 50%, 75% y 100%) y la clorhexidina al 0.12% sobre el Streptococcus mutans ATCC 25175 a las 24 horas y 48 horas



Nota. En el gráfico se observó que el efecto antibacteriano incrementa con la concentración del enjuague bucal, alcanzando su punto máximo con la clorhexidina al 0.12%. Le seguido, en eficiencia, el enjuague bucal a base de extracto etanólico de Matricaria chamomilla al 100%. Además de ello, en todos los casos, el efecto a las 48 horas es igual o ligeramente mayor que a las 24 horas, lo que se demostró una acción acumulativa o sostenida. En cuanto a las diferencias por concentración, para las concentraciones de 0.25, 0.5, 0.75, y 1, el incremento en el efecto antibacteriano de 24 a 48 horas es leve, sin embargo, la clorhexidina al 0.12% tuvo un efecto más alto y la diferencia entre 24 horas y 48 horas es mínima, indicando un efecto antibacteriano consistente y prolongado, seguido el enjuague bucal a base de extracto etanólico de Matricaria chamomilla al 100% también presentó valores altos.

Tabla 6Comparación el efecto antibacterial del diámetro de los halos de inhibición en 24 horas y 48 horas

Efecto Antibacterial	ME		N			DE	
Diámetro de halo 24	15.45		65			1.15	
horas							
Diámetro de halo 48	15.31		65			1.14	
horas							
Diámetro de halo de	ME	DE	95% I	C	t	gl	p
inhibición 24 h - 48 h			LI	LS			
	0.142	0.079	0.122	0.161	14.44	64	< 0.001

Nota. Se realizó la prueba t de Student para muestras relacionadas. Tras el análisis, se observó que el diámetro de halo de inhibición a las 24 horas fue mayor, con una media de (15.45 mm ± 1.15 mm). La muestra nos indicó que p < 0.001, es decir existe diferencia significativa entre las dos mediciones. El tamaño de efecto para una prueba t de Student de muestras relacionadas es el d de Cohen's. Podemos concluir que, aunque la diferencia es estadísticamente significativa, su magnitud es pequeña (ME=0.142 mm). Esto coincide con el tamaño del efecto previamente calculado (d=0.18, tamaño de efecto pequeño). Por lo tanto, la diferencia entre las dos mediciones no fue clínicamente relevante, es decir, el impacto práctico fue limitado debido al tamaño del efecto pequeño sobre la diferencia del diámetro de halo de inhibición de 24 horas y 48 horas.

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la Odontología, ha aumentado el interés de los profesionales de la salud por investigar las propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias, cicatrizantes y analgésicas de los agentes fitoterapeuticos derivados de las plantas medicinales, como la Matricaria chamomilla.

Es una planta fácilmente disponible para la población y ofrece un sabor placentero, lo que favorece su uso como enjuague bucal, ya que no provoca efectos secundarios con su uso prolongado. Además, aporta múltiples beneficios para la salud general y odontológica, y tiene una acción destacada contra microorganismos cariogénicos, como el *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Ya que los laboratorios farmacéuticos en el Perú no elaboran este tipo de enjuague bucal que son exclusivamente de Matricaria chamomilla, solo existe un laboratorio farmacéutico llamado Lamosan que distribuye a cuatro países, incluyendo Perú, aunque su utilización sea limitada a pacientes con tratamientos de ortodoncia y sus componentes químicos son otros.

Esto ha impulsado la búsqueda de opciones de tratamiento alternativos, el propósito de esta investigación es examinar la actividad antibacteriana in vitro de un enjuague bucal que contenía extracto etanólico de Matricaria chamomilla en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente al *Streptococcus mutans*. Los hallazgos obtenidos muestran que el enjuague bucal que contenía extracto etanólico de Matricaria chamomilla a diferentes concentraciones (25%, 50%, 75% y 100%), restringe de forma considerable el desarrollo del *Streptococcus mutans*, notándose ligeras variaciones entre los grupos evaluados. Entre las muestras, la concentración al 100% demostró el efecto antibacteriano más potente, aunque este fue menor en comparación con el que se registró utilizando la clorhexidina 0.12%, que funciona como control positivo. La aplicación de la prueba de análisis de varianzas (ANOVA) confirmó la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los grupos evaluados, con un valor p inferior a 0,05. Además, el análisis post hoc corroboró que las diferencias son

estadísticamente significativas en todas las combinaciones de grupos. Por otro lado, se observará que las diferencias entre el enjuague bucal elaborado de extracto etanólico de Matricaria chamomilla en concentraciones de 25% y 50% son más notorias en comparación con el enjuague bucal elaborado de extracto etanólico de Matricaria chamomilla en concentración de 75% y 100%, lo que indica que la efectividad antibacteriana parece estabilizarse en concentraciones más altas. Finalmente, aunque todas las concentraciones de enjuagues bucales evidencian mejoras en el efecto antibacteriano con el tiempo, el incremento no es tan notable como el efecto absoluto observado.

El enjuague bucal elaborado con extracto etanólico de la Matricaria chamomilla, administrado en diferentes concentraciones durante periodos de 24 y 48 horas, mostró un efecto antibacterial significativo sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, evidenciado por la formación de halos inhibitorios. A las 24 horas, el enjuague bucal con extracto etanólico al 100% presentó un diámetro de inhibición máximo de 15.9 mm, el cual se aproxima al efecto de la clorhexidina 0.12%. En contraste, el enjuague bucal con extracto etanólico al 25 % mostró un diámetro de inhibición inferior, alcanzando solo 13.9 mm. A las 48 horas, el enjuague bucal con extracto etanólico al 100% continuó demostrando el mayor diámetro de inhibición, con una medida de 15.8 mm, mientras que el correspondiente al 25 % disminuyó aún más, alcanzando un diámetro de 13.7 mm.

En esta investigación, se ha evidenciado que una concentración superior del enjuague bucal que contiene extracto etanólico de Matricaria chamomilla se relaciona con un aumento notable en el halo de inhibición contra el *Streptococcus mutans*. Esta observación concuerda con los hallazgos de Sebastiani y Bances (2021), quienes elaboraron extractos al 15%, 20% y 25%, además de enjuagues bucales en esas mismas concentraciones, aplicando la técnica de Kirby Bauer para medir la acción antimicrobiana. Su resultado se mostró que el extracto etanólico y enjuague bucal al 25% obtuvieron un mayor diámetro de halo de inhibición de

13,05 mm y 13,9 mm respectivamente. En nuestra investigación, aplicamos la misma técnica Kirby Bauer para analizar el efecto antibacterial y obtuvimos el mismo diámetro en el enjuague bucal al 25%, validando que a una mayor concentración se genera un halo inhibitorio más extenso. Esto sugiere que a concentraciones más elevadas se presentan más componentes activos, lo que podría explicar el aumento en el efecto antibacteriano observado. Al contrario del estudio de Jauregui (2013) que elaboró un enjuague bucal a base de aceite esencial al 0.10%, 0.25% y 0.50% para llevar a cabo la determinación del efecto antibacteriano a través del registro de unidades formadores de colonias (UFC), no se pudo detectar un aumento en el crecimiento del *Streptococcus mutans* ATCC 25175, dado que la cantidad de la muestra fue insuficiente en las tres concentraciones evaluadas, resultando en un resultado negativo. Esto se debe a las diferencias en el método de extracción de los componentes activos y al tipo de solvente utilizado en el aceite y el extracto, lo que influye directamente en su efecto antibacteriano.

Otro estudio sobre la efectividad antibacteriana de López M. (2018) que realizó la medición de los halos de inhibición del extracto hidroetanólico de Matricaria chamomilla al 15%, 20% y 25% durante 24 y 48 horas, la concentración al 25% presentó un diámetro 10.29 mm y 11.79 respectivamente hubo un incremento durante los tiempos. A diferencia de nuestra investigación que a la misma concentración obtuvo diámetros mayores, pero no se mantuvo un incremento respecto a los tiempos.

En nuestra investigación, se observó que a medida que aumenta la concentración del enjuague bucal que contiene extracto etanólico de Matricaria chamomilla, se amplía el halo de inhibición en relación con las concentraciones de 50% y 100 % que obtuvieron un promedio de 14.9 mm y 15.9 mm respectivamente , mientras que el estudio de Garza (2018) en México realizó un extracto etanólico al 50% y 100% se obtuvo diámetro de 8 mm y 12 mm siendo inferior a nuestros resultados obtenidos ; los estudios realizados en el Perú de Obando (2018)

realizó un aceite esencial de Matricaria chamomilla a las mismas concentraciones cuyo resultado fueron de 20 mm y 26.75 mm . Y el estudio de Ortiz (2014) elaboró un extracto acuoso al 50% y 100% obtuvieron 36.75 mm y 47,25 mm siendo los resultados de estos dos estudios superiores a nuestros resultados obtenidos.

Se llevaron a cabo 13 placas Petri, se notó que la clorhexidina al 0.12% exhibió un mayor tamaño de halo inhibitorio de 17.1 mm en comparación con el enjuague bucal elaborado a partir de extracto etanólico de Matricaria chamomilla al 100%. Estos resultados son consistentes con el estudio de Cosco (2010), en el cual el grupo control, compuesto por clorhexidina 0.12%, mostró mayor efecto inhibitorio superior, alcanzando un diámetro de 24.2 mm. Debido a su alta y consistente efectividad antibacteriana, la clorhexidina al 0.12% se establece como el control positivo o estándar de referencia en el presente estudio. Sin embargo, es importante mencionar que, a diferencia de los hallazgos reportados en esta investigación, la concentración del 100% no evidenció una diferencia estadísticamente relevante en comparación con el grupo control de clorhexidina 0.12%, según lo observado en nuestro análisis. En resumen, los resultados finales sugieren que el enjuague bucal elaborado de extracto etanólico de Matricaria chamomilla al 100% exhibe un efecto antibacterial comparable al de la clorhexidina 0.12%.

VI. CONCLUSIONES

- 6.1. Se infiere que el enjuague bucal elaborado de extracto etanólico de manzanilla al 25%, 50%, 75% y 100% ha demostrado tener un efecto antibacterial sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- 6.2. Durante las 24 horas, el enjuague bucal elaborado de extracto etanólico de manzanilla al 100% evidencio el mayor diámetro de halo inhibitorio. En contraste, el enjuague bucal elaborado de extracto etanólico de Matricaria chamomilla al 25% exhibió el menor diámetro de halo inhibitorio.
- 6.3. Durante las 48 horas, el enjuague bucal que contenía extracto etanólico de manzanilla al 100% evidenció un diámetro de halo inhibitorio superior. En contraste, el enjuague bucal que contenía extracto etanólico de Matricaria chamomilla al 25% presento un diámetro de halo inhibitorio inferior.
- 6.4. Se contrasto que conforme aumenta la concentración del enjuague bucal elaborado de extracto etanólico de manzanilla, se incrementa el halo de inhibición sobre el *Streptococcus mutans*. Además, las concentraciones más altas logran un efecto antibacterial prolongado, aunque se observó cierta variabilidad en los resultados.
- 6.5. Se ha evidenciado que el enjuague bucal elaborado de extracto etanólico de Matricaria chamomilla en concentraciones de 75% y 100% exhiben efectos antibacterianos significativos, aunque con una variabilidad en los resultados observados. En contrate, el enjuague bucal elaborado de extracto etanólico de Matricaria chamomilla en concentraciones de 25% y 50% muestran un efecto limitado, aunque con una mayor consistencia en sus resultados.
- 6.6. Finalmente, se establece que el enjuague bucal elaborado de extracto etanólico de manzanilla al 100% es aproxima más al efecto de la clorhexidina al 0.12%.

VII. RECOMENDACIONES

- 7.1. Incentivar a los laboratorios farmacéuticos en Perú a elaborar enjuagues bucales únicamente con Matricaria chamomilla, ya que representa una alternativa natural, eficaz y segura para preservar la higiene oral y evitar patologías periodontales. Dado que aún no existe este tipo de enjuagues bucales en el mercado peruano.
- 7.2. Se recomienda a los profesionales de la salud incorporar en su práctica odontológica el uso de productos naturales, debido a su accesibilidad y bajo costo, además de sus propiedades antisépticos y antiinflamatorios.
- 7.3. Con el apoyo de la Universidad, llevar a cabo un estudio piloto con los estudiantes y docentes sobre la efectividad del uso de este enjuague bucal a base de Matricaria chamomilla, que ayudará a complementar este estudio y a la futura producción de este enjuague bucal en los laboratorios farmacéuticos del Perú.
- 7.4. Aumentar el interés por el cuidado bucal mediante el uso de productos naturales como la Matricaria chamomilla, que es una planta de fácil disponibilidad y sabor agradable, adecuada para su uso como enjuague bucal porque no produce efectos secundarios.
- 7.5. Finalmente, se sugiere ampliar este estudio, ya que se llevó a cabo "in vitro" y se centró en el efecto antibacterial del enjuague bucal elaborado de extracto etanólico de Matricaria chamomilla a diferentes concentraciones frente al *Streptococcus mutans*. Es importante complementarlo con investigaciones adicionales en animales; así como ensayos clínicos en humanos, para confirmar la eficacia, seguridad y tolerancia de este enjuague bucal.

VIII. REFERENCIAS

- Abbasi, F., Khazaei, S. & Ahmadi Motamayel, F. (2022). Evaluation of pharmaceutical use of chamomile in dentistry: A review. *Journal of Craniomaxillofacial Research*, 9(3), 110–117.
- Acosta, J. & Armas, A. (2022). Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Camellia sinensis* y propóleo frente a cepas de *Streptococcus mutans*. *Odontología Sanmarquina*, 25(2), e21298. https://doi.org/10.15381/os.v25i2.21298
- Albuquerque, A., Pereira, M., Pereira, J., Pereira, L., Silva, D., Macêdo-Costa, M. & Higino, J. (2010). Efeito antimicrobiano do extrato de *Matricaria recutita* Linn. contra microrganismos do biofilme dental. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada*, 10(3), 451-455. https://doi.org/10.4034/1519.0501.2010.0103.0018
- Baban, D. (2021). Efficacy of chamomile mouthwash on clinical and serum inflammatory parameters in relation to chlorhexidine in chronic gingivitis patients. *Diyala Journal of Medicine*, 21(1), 64–74. https://doi.org/10.26505/djm.21015960222
- Braga, A., Simas, L., Pires, J., Souza, B., Rosa de Melo, F., Saldanha, L., Dokkedal, A. & Magalhães, A. (2020). Antibiofilm and anti-caries effects of an experimental mouth rinse containing *Matricaria chamomilla* L. extract under microcosm biofilm on enamel.

 *Journal of Dentistry, 99, 103415. https://doi.org/10.1016/j.jdent.2020.103415
- Cárcamo, O., Oliva, M. & González, C. (2011). Efectividad antimicrobiana del colutorio de Matricaria recutita en funcionarios de la Facultad de Odontología de la Universidad del Desarrollo, Chile. International Journal of Odontostomat, 5(2), 179-184.
- Cavalieri, S. J., Ortez, J. H., Rankin, I. D., Sautter, R. L. & Coyle, M. B. (Eds.). (2005). *Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana*. American Society for Microbiology. https://www3.paho.org/hq/dmdocuments/2005/susceptibilidad-antimicrobiana-manual-pruebas-2005.pdf

- Cosco, R. (2010). Actividad inhibitoria del crecimiento de Streptococcus mutans y de flora mixta salival por acción de aceite esencial de la Matricaria chamomilla (manzanilla).

 [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. Cybertesis UNMSM. https://cybertesis.unmsm.edu.pe/item/22b15450-0587-4a4e-a27d-09996878fa2a
- Cumbreño, S. & Pérez, F. (2004) Elaboración de soluciones. *Offarm*.

 .https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-elaboracion-soluciones13067793
- Chatzopoulos, G., Karakostas, P., Kavakloglou, S., Assimopoulou, A., Barmpalexis, P. & Tsalikis, L. (2022). Clinical effectiveness of herbal oral care products in periodontitis patients: A systematic review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(16), 10061. https://doi.org/10.3390/ijerph191610061
- Choque, N. (2017). Efectividad del enjuague bucal de Matricaria chamomilla frente al de Plantago major en el control de la placa bacteriana en adolescentes de 15 a 16 años en la I.E.S. Juan Bustamante de Lampa 2017. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional del Altiplano]. Repositorio UNAP. http://repositorio.unap.edu.pe/handle/20.500.14082/5470
- Chen, Y., Wong, R., McGrath, C., Hagg, U. & Seneviratne, C. (2014). Natural compounds containing mouthrinses in the management of dental plaque and gingivitis: A systematic review. *Clinical Oral Investigations*, 18(1), 1–16. https://doi.org/10.1007/s00784-013-1033-0
- Da Costa Santos, A., De Araújo Cruz, J., Guênes, G., De Oliveira Filho, A. & Alves, M. (2019).

 Matricaria chamomilla L: propriedades farmacológicas. *Archives of Health Investigation*, 8(12), 846–852. https://doi.org/10.21270/archi.v8i12.4654
- Fortuna, T., De Lima Dantas, J., De Araújo, R., De Jesus Campos, E. & Martins, G. (2022). El

- papel de *Matricaria recutita* en la salud y la práctica odontológica: Una revisión narrativa de la literatura. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 24, 12–21. https://doi.org/10.1590/1983-084X/20 02 015
- Gaete, F. & Oliva, M. (2012). Efectividad del colutorio de manzanilla comparado con placebo y clorhexidina en pacientes con gingivitis entre 19 y 25 años: ensayo clínico controlado. *International Journal of Odontostomat*, 6(2), 151–156.
- Gamboa, F. (2014). Identificación y caracterización microbiológica, fenotípica y genotípica del Streptococcus mutans: Experiencias de investigación. *Universitas Odontológica*, 33(71), 65–73. https://doi.org/10.11144/Javeriana.uo33-71.icmf
- Garg, Y., Chowdhary Z., Garg, K., Kshirsagar, M., Sharma, A., Ramvilas, J. & Paiwal, K. (2023). Evaluación de la eficacia antiplaca y antigingivitis de dos pastas dentales a base de hierbas y no a base de hierbas disponibles comercialmente. *Cureus 15(5)*, e39558. https://doi.org/10.7759/cureus.39558
- Garza, M. (2018). Evaluación y caracterización de Matricaria chamomilla "Manzanilla" y su potencial aplicación antimicrobiana en el manejo multidisciplinario de caries temprana de la infancia. [Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Nuevo León].

 Repositorio Institucional UANL. https://eprints.uanl.mx/15954/
- Gomero, N. (2022). Efecto antibacteriano in vitro de la manzanilla (Matricaria chamomilla L.) en aceite esencial e infusión sobre el Streptococcus mutans [Tesis de pregrado, Universidad Privada Norbert Wiener]. Repositorio Institucional UWIENER. https://hdl.handle.net/20.500.13053/7725
- Gościniak, A., Paczkowska-Walendowska, M., Skotnicka, A., Ruchała, M. & Cielecka-Piontek, J. (2021). Can plant materials be valuable in the treatment of periodontal diseases? Practical review. *Pharmaceutics*, 13(12), 2185. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13122185

- Gomes, V., Silva, R., Gomes, M., Joaquim, W., Lago, E. & Nicolau, R. (2018). Effects of Matricaria recutita (L.) in the treatment of oral mucositis. *The Scientific World Journal*, 2018, 4392184. https://doi.org/10.1155/2018/4392184
- Guven, Y., Üstün, N., Tuna, E. & Aktören, O. (2019). Antimicrobial effect of newly formulated toothpastes and a mouthrinse on specific microorganisms: An in vitro study. *European Journal of Dentistry*, 13(2), 172–177. https://doi.org/10.1055/s-0039-1695655
- Hernández, R. (2015). Uso tradicional de la manzanilla como planta medicinal en el asentamiento Las Violetas del municipio de Nebaj, departamento del Quiché. [Tesis de pregrado, Universidad de San Carlos de Guatemala]. http://biblioteca.usac.edu.gt/EPS/07/07 5676.pdf
- Jauhari, D., Srivastava, N., Rana, V. & Chandna, P. (2015). Comparative evaluation of the effects of fluoride mouthrinse, herbal mouthrinse and oil pulling on the caries activity and *Streptococcus mutans* count using Oratest and Dentocult SM strip mutans kit.

 **International Journal of Clinical Pediatric Dentistry, 8(2), 114–118.

 **https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-1295
- Jáuregui, G. (2013). Efecto antibacteriano in vitro del colutorio a base de Matricaria chamomilla (manzanilla) a diferentes concentraciones sobre la cepa ATCC 2652263 de Streptococcus mutans [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Trujillo]. https://hdl.handle.net/20.500.14414/592
- Kharaeva, Z., Mustafaev, M., Khazhmetov, A., Gazaev, I., Blieva, L., Steiner, L., Mayer, W., De Luca, C. & Korkina, L. (2020). Anti-bacterial and anti-inflammatory effects of toothpaste with Swiss medicinal herbs towards patients suffering from gingivitis and initial stage of periodontitis: From clinical efficacy to mechanisms. *Dentistry Journal*, 8(1), 10. https://doi.org/10.3390/dj8010010
- Lins, R., Vasconcelos, F., Leite, R., Coelho-Soares, R. & Barbosa, D. (2013). Avaliação clínica

- de bochechos com extratos de Aroeira (*Schinus terebinthifolius*) e Camomila (*Matricaria recutita* L.) sobre a placa bacteriana e a gengivite. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 15(1), 112–120.
- López, M. (2018). Efectividad antibacteriana in vitro del gel de Aloe vera y extracto hidroetanólico de Matricaria chamomilla (manzanilla) sobre cepas de Streptococcus mutans ATCC 25175 [Tesis de pregrado, Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote].
- Milani, A., Macedo, C., Bello, M., Klein-Júnior, C. & Dos Santos, R. (2018). A successful approach to control burning mouth syndrome using *Matricaria recutita* and cognitive therapy. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 10(5), e499–e501. https://doi.org/10.4317/jced.54686
- Morales, C., Longoria, M., Rivas, M. & Vega, E. (2018). Infusión Matricaria Chamomilla (manzanilla) como inhibidor del crecimiento de *Streptococcus Mutans* en pacientes con tratamiento de ortodoncia.
- Montgomery, D. C. (2017). Design and analysis of experiments (9th ed.). Wiley.
- Morales, I., Ortega, A., Rojas, G., Aitken, J., Salinas, J., Lefimil, C., Lozano, C., Manríquez, J. & Urzúa, B. (2015). Reporte preliminar sobre el efecto de un sustituto salival a base de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y linaza (*Linum usitatissimum*) en el alivio de la xerostomía en adultos mayores. *Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral, 8*(2), 144–149. https://doi.org/10.1016/j.piro.2015.01.001
- Mühlhauser, P. & Rivas, J. (2014). Laboratorio de microbiología: Conocimientos básicos para un clínico. *Revista Médica Clínica Las Condes, 25*(3), 569–579. https://doi.org/10.1016/S0716-8640(14)70072-0
- Naghsh, N., Moghareabed, A., Nematnejad, M., Yaghini, J. & Sadeghi, S. (2023). A comparative evaluation of the antimicrobial effect of chamomile, Aloe vera-green tea,

- and chlorhexidine mouthwashes on some oral bacterial species. *Dental Research Journal*, 20(1), 70. https://doi.org/10.1016/s0716-8640(14)70072-0
- Obando, V. (2018). Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de la inflorescencia de Matricaria chamomilla (manzanilla) sobre cepa de Streptococcus mutans sp. [Tesis de pregrado, Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote]. Repositorio Institucional de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/5228
- Ortiz, P. (2014). Efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de manzanilla (Matricaria chamomilla) en diferentes concentraciones sobre la cepa de Streptococcus mutans.

 [Tesis de pregrado, Universidad Central del Ecuador].
- Pentapati, K., Kukkamalla, M., Siddiq, H. & Sabnis, N. (2020). Effectiveness of novel herbal dentifrice in control of plaque, gingivitis, and halitosis: A randomized controlled trial.

 *Journal of Traditional and Complementary Medicine, 10(6), 565–569. https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2019.06.006
- Pequeño, M., Silvestre, M., Amêndola, I., Silva, C., Leão, M. & Santos, S. (2018). Matricaria recutita extract (chamomile) to reduce *Candida albicans* and *Enterobacter cloacae* biofilms: In vitro study. *RGO Revista Gaúcha de Odontologia, 66*(2), 122-128. https://doi.org/10.1590/1981-863720180002000033328
- Picazo, J., García, J., Cantón, R., Elías, J., Sánchez, G., Luisa, M., Luis, G., Martínez, M., Rodríguez-Avial, C. & Vila, J. (2000). *Procedimientos en Microbiología Clínica*. (Protocolo N° 11). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.
 - https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia/1.pdf
- Safiaghdam, H., Oveissi, V., Bahramsoltani, R., Farzaei, M. H. & Rahimi, R. (2018). Medicinal

- plants for gingivitis: A review of clinical trials. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 21(10), 978–991. https://doi.org/10.22038/IJBMS.2018.31997.7690
- Santos-Zambrano, T., Jaime-Szwom, R. & Couto de Almeida, R. (2020). Uso de compuestos naturales para reducir la carga bacteriana de la cavidad oral: un artículo de revisión. *Biotempo, 17*(1), 173–183. https://doi.org/10.31381/biotempo.v17i1.3146
- Sánchez, M. J. (2000). Higiene bucodental: pastas dentífricas y enjuagues bucales. *Offarm*, 19(3), 69–79. https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-higiene-bucodental-pastas-dentifricas-enjuagues-15465
- Satyal, P., Shrestha, S. & Setzer, W. (2015). Composition and bioactivities of an (E)-β-farnesene chemotype of chamomile (Matricaria chamomilla) essential oil from Nepal.

 *Natural Product Communications, 10 (8), 1453-1457.

 https://doi.org/10.1177/1934578X1501000835
- Sebastiani, R. & Bances, L. (2021). Actividad antibacteriana del enjuague bucal a base del extracto etanólico de Matricaria chamomilla L. (manzanilla) sobre Streptococcus mutans. [Tesis de pregrado, Universidad Privada Franklin Roosevelt]. http://50.18.8.108:8080/handle/ROOSEVELT/579
- Talavera, M. (2015). Efecto antibacteriano sobre el *Streptococcus mutans* (ATCC® 25175) y perfil de compuestos fenólicos de la manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) cultivada en Puno. *Revista de Investigaciones Altoandinas Journal of High Andean Research,* 17(2), 173–182. https://doi.org/10.18271/ria.2015.110
- Talebi, M., Farahi, A., Mojab, F., Moscowchi, A. & Gharazi, Z. (2022). Effect of an herbal mouthwash on periodontal indices in patients with plaque-induced gingivitis: A cross-over clinical trial. *Journal of Advanced Periodontology & Implant Dentistry*, 14(2), 109–113. https://doi.org/10.34172/japid.2022.017
- Vara-Delgado, A., Sosa-González, R., Alayón-Recio, C., Ayala-Sotolongo, N., Moreno-

Capote, G. & Alayón-Recio, V. (2019). Uso de la manzanilla en el tratamiento de las enfermedades periodontales. *Archivo Médico Camagüey*, 23(3), 403–414. https://revistaamc.sld.cu/index.php/amc/article/view/590

IX. ANEXOS

9.1. Anexo A

9.1.1. Ficha de recolección de datos

	EFECTO ANTIBACTERIAL DEL ENJUAGUE BUCAL A BASE DE EXTRACTO DE MATRICARIA CHAMOMILLA											
Especie de Bacteria		Streptococcus mutaris										
Concentración	25	796	50)%	75	7%	10	0%	Control Positivo			ntrol ativo
Tiempo	24H	48H	24H	48H	24H	48H	24H	48H	24H	48H	24 H	48 H
Placa # 01												
Placa # 02												
Placa # 03												
Placa # 04												
Placa # 05												
Placa # 06												
Placa # 07												
Placa # 08												
Placa # 09												
Placa # 10												
Placa # 11												
Placa # 12												
Placa # 13												

9.2. Anexo B

9.2.1. Carta de presentación



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

"Año del Bicentenario de la consolidación de nuestra Independencia y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho"

OFICINA DE GRADOS Y GESTIÓN DEL EGRESADO

Pueblo Libre, 2 de diciembre de 2024

Doctor **EDUARDO FLORES JUAREZ** DECANO - FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

Atención: Q.F. PAÚL IVÁN GUTIÉRREZ ELESCANO CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO

Presente.-

De mi especial consideración:

Tengo el agrado de dirigirme a usted, con la finalidad de presentarle a la Bachiller en Odontología Srta. Gabriela Alexandra Medina Ulloa, quien se encuentra realizando el Plan de Tesis titulado:

«EFECTO ANTIBACTERIAL DEL ENJUAGUE BUCAL A BASE DE EXTRACTO ETANÓLICO CON MATRICARIA CHAMOMILLA FRENTE AL STREPTOCOCCUS MUTANS SPP (ATCC 25175). IN VITRO»

En tal virtud, mucho agradeceré le brinde las facilidades del caso a la Srta. Medina quien realizará el siguiente trabajo:

- Obtención del extracto etanólico y enjuague bucal de la Matricaria Chamomilla a diferentes concentraciones - 25%, 50%, 75% y 100%.
- Evaluación del efecto antibacterial del enjuague bucal obtenido, frente al streptococcus mutans en 13 placas en períodos de 24 y 48 horas.

Estas actividades, le permitirán a la bachiller, desarrollar su trabajo de investigación.

Sin otro particular, aprovecho la oportunidad para renovarle los sentimientos de mi especial consideración.

Atentamente

LIMA-PERU

Dr. FRANCO RAÚL MAURICIO VALENTÍN DECANDECANO

Se adjunta: Plan de Tesis NT: 085518 - 2024 AAMM/Luz V.

Dr. AMERICO A. MUNAYCO MAGALLANES JEFE

ULTAD DE ODONTO

OFICINA DE GRADOS y GESTIÓN DEL EGRESADO FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Calle San Marcos Nº 351 - Pueblo Libre -

Telef.: 7480888 - 8335

9.3. Anexo C

9.3.1. Informe taxonómico





UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho"

CONSTANCIA Nº 287-USM-MHN-2024

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (fértil) recibida de **Gabriela Alexandra Medina Ulloa**, estudiante de pregrado de la Universidad Nacional Federico Villarreal ha sido estudiada y clasificada como: *Matricaria chamomilla* L. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación APG IV (2016).

ORDEN: Asterales Link

FAMILIA: Asteraceae Bercht. & J. Presl

GÉNERO : $Matricaria\ L$.

ESPECIE: Matricaria chamomilla L.

Nombre vulgar: "Matricaria chamomilla"

Procedencia: Centro poblado Picoy, distrito Acobamba, provincia Tarma, departamento Junín

Determinado por: MSc. Hamilton Beltrán Santiago

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 23 de octubre de 2024

Dr. Asunción Cano Echevarria

JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS USM

9.4. Anexo D

9.4.1. Certificación del Streptococcus mutans cepa ATCC 25175

Microbiologics

Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Product Name: Streptococcus mutans

Catalog Number: 0266 Lot Number: 266-36**

Reference Number; ATCC® 25175™*

Passage from Reference: 3 Expiration Date: 2024/12/31 RELEASE INFORMATION:

Quality Control Technologist: Kalina E George

Medium:

Method:

Gram Stain (1)

SBAP

Release Date: 2023/02/01

Performance

Macroscopic Features:

Two colony types; small, circular, dome shaped, entire edge, white and the other is

small, circular and translucent.

Microscopic Features:

Small gram positive cocci to ovoid cells occurring singly, in pairs and predominately in

chains

ID System: MALDI-TOF (1)

See attached ID System results document.

Other Features/ Challenges: Results

(1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative

Amanda Kuperus Director of Quality Control AUTHORIZED SIGNATURE.

"Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing alip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.



TESTING CERT #2655.01



(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures,



9.5. Anexo E

9.5.1. Certificado del agar Mueller Hinton



2 h

29776

Page 1 of 3

CERTIFICATE OF ANALYSIS

PRODUCT

CM0337B

MUELLER HINTON AGAR

500g

LOT NUMBER

3379958

EXPIRY DATE

2026.10.20

DATE OF

MANUFACTURE 2021.10.22

Delivery/Customer information

Date Printed 2022.03.15

Delivery No.

Customer

Customer Order Number

Physical Characteristics	Results	Specification
Appearance	Straw powder	Straw powder
C. r on reconstitution	Straw 2-3	Straw 2-3
pH (25°C)	7.2	7.2 - 7.4
Clarity	Clear	Clear
DEROLES DIES DE 15 DESCRIPTION NOME.		

Microbiological Performance

Antibiotic susceptibility tests are performed in accordance to, and meet the acceptance limits of, the current ISO/TS 16782. Performance is assessed using EUCAST methodology.

	mbient air	T 2000.20	
	Zone Size	Limits	
n	(mm)	(mm)	
Erythromycin E15	27	22 - 30	
Tetracycline TE30	28	24 - 30	
Ciprofloxacin CIP5	24	22 - 30	
Amoxicillin-clavulanate AMC30	34	28 - 36	
Ampicillin-sulbactam SAM20	33	29 - 37	
Lin_id LZD30	29	25 - 32	
Cefoxitin FOX30	27	23 - 29	
Gentamicin CN10	24	19 - 27	
Penicillin P10	33	26 - 37	
Staphylococcus aureus ATCC®29213 WDC	M00131		
Incubation at $35 \pm 1^{\circ}$ C for 16-20 hours in an	nbient air		
Penicillin P1	14	12 - 18	
Cefoxitin FOX30	28	24 - 30	
Ciprofloxacin CIP5	22	21 - 27	
Erythromycin E15	27	23 - 29	
Gentamicin CN10	20	19 - 25	
Linezolid LZD10	25	21 - 27	
Tetracycline TE30	25	23 - 31	



9.6. Anexo F

9.6.1. Certificado de la elaboración del extracto etanólico de la Manzanilla



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América Facultad de Farmacia y Bioquímica CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



Nº CAS*: -

REPORTE DE ANÁLISIS Nº 00351-CCA-2024

SOLICITADO POR® DIRECCIÓN*

MUESTRA*

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

RECEPCIONADO

VARIEDAD RECEPCIONADA*

PRINCIPIO ACTIVO*

NÚMERO DE LOTE*

CANTIDAD

ORDEN DE ANÁLISIS

FECHA DE RECEPCIÓN

FECHA DE FABRICACIÓN* FECHA DE VENCIMIENTO*

EJECUCIÓN DEL ENSAYO

FECHA DE EMISIÓN

: GABRIELA ALEXANDRA MEDINA ULLOA

: JR. LAS PLÉYADES 270 - LA CAMPIÑA CHORRILLOS

MANZANILLA

02 bolsas herméticas de plástico selladas con rotulado a

mano

: 1 kg (c/u)

: 0288-2024

: 24 de septiembre del 2024

: Del 14 de octubre del 2024 al 04 de noviembre del 2024

: 25 de noviembre del 2024

ENSAYO	CONCENTRACIÓN	RESULTADOS
EXTRACTO ETANÓLICO	100% (p/v)	Conforme
EXTRACTO ETANÓLICO	75% (p/v)	Conforme
EXTRACTO ETANÓLICO	50% (p/v)	Conforme
EXTRACTO ETANÓLICO	25% (p/v)	Conforme

Q.F. Paul Iván Gutiérrez Elescano Director del Centro de Control Analítico

*Detos proporcionados por el cliente

Los resultados son válidos solo para la muestra ensayada.



9.7. Anexo G

9.7.1. Certificado de la elaboración del enjuague bucal



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América Facultad de Farmacia y Bioquímica CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



REPORTE DE ANÁLISIS Nº 00352-CCA-2024

SOLICITADO POR*

DIRECCIÓN*

MUESTRA*

: GABRIELA ALEXANDRA MEDINA ULLOA

 JR. LAS PLÉVADES 270 – LA CAMPIÑA CHORRILLOS
 INSUMOS PARA PREPARACIÓN DE ENJUAGUE BUCAL DE EXTRACTO DE MANZANILLA

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO RECEPCIONADO : 01 caja de cartón sellada con rotulado a mano + frascos

VARIEDAD RECEPCIONADA* PRINCIPIO ACTIVO* 200

NÚMERO DE LOTE*

: -

Nº CAS*: -

CANTIDAD

: -: 1 kg

ORDEN DE ANÁLISIS

: 0305-2024

FECHA DE RECEPCIÓN

: 11 de noviembre del 2024

FECHA DE FABRICACIÓN*
FECHA DE VENCIMIENTO*

: -

EJECUCIÓN DEL ENSAYO

: Del 19 de octubre del 2024 al 20 de noviembre del 2024

FECHA DE EMISIÓN

: 25 de noviembre del 2024

ENSAYO	ESPECIFICACIÓN	RESULTADOS
ENJUAGUE BUCAL	EXTRACTO ETANÓLICO DE MANZANILLA AL 100%	Conforme
ENJUAGUE BUCAL	EXTRACTO ETANÓLICO DE MANZANILLA AL 75%	Conforme
ENJUAGUE BUCAL	EXTRACTO ETANÓLICO DE MANZANILLA AL 50%	Conforme
ENJUAGUE BUCAL	EXTRACTO ETANÓLICO DE MANZANILLA AL 25%	Conforme

Q.F. Paul Iván Gutférrez Elescano Director del Centro de Control Analítico

*Datos proporcionados por el cligate

Los resultados son válidos solo para la muestra ensayada.

"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

9.8. Anexo H

9.8.1. Procedimiento

Recolección de la muestra













Elaboración del extracto etanólico a base Matricaria chamomilla



Muestra sometida a una temperatura de 40°C



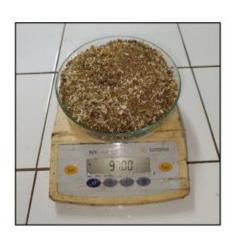
Muestra seca obtenida



Trituración de la muestra



Muestra obtenida tras la trituración



Pesaje de muestra triturada



Mezcla de muestra triturada y solvente en envase ámbar



Envase con muestra y solvente en ultrasonido



Equipo de filtración



Filtración del macerado



Extracto obtenido





División del extracto

Placas con extracto en estufa



Placas con extracto reducido



Envases estériles con extracto etanólico al 100%, 75%, 50% y 25%



Elaboración del enjuague bucal



Insumos para elaboración del enjuague bucal

Balanza analítica





Pesado de sacarina sódica para 4 enjuagues bucales



Pesado de sacarina sódica



Adición de glicerina

Lauril éter sulfato de sodio (3 g) en 4 vasos de precipitado



Glicerina (14.7 mL) en 4 vasos de precipitado







Mezcla de lauril sulfato de sodio y glicerina en agitador magnético



Adición de agua destilada



Adición de sacarina sódica

Adición de sorbitol



Adición de extracto de manzanilla al 100%



Preparación de colutorio del extracto etanólico del 75%

Adición de alcohol de 96°



Envasado y sellado del colutorio







Preparación de colutorio del extracto etanólico del 50%



Preparación de colutorio del extracto etanólico del 25%



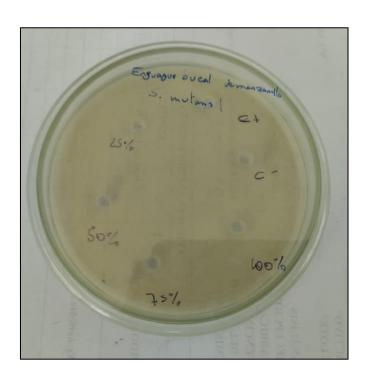
Colutorio envasado

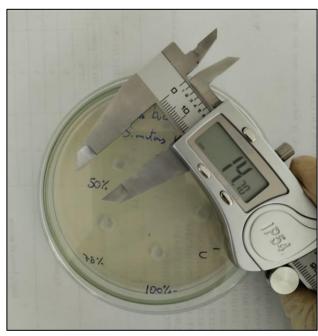


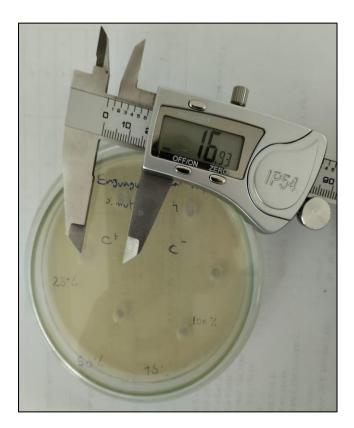
Colutorios después de 24 horas

9.9. Anexo I

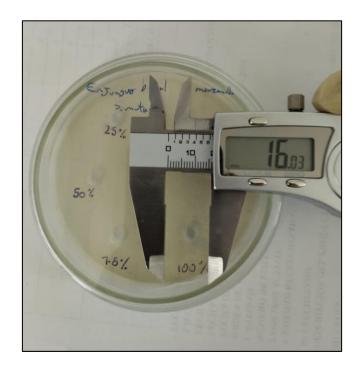
9.9.1. Análisis microbiológico durante las 24 horas

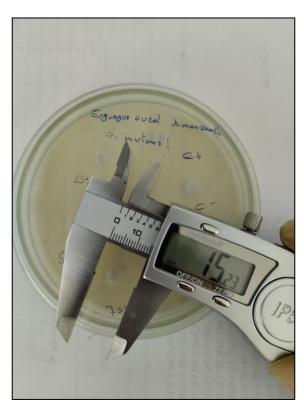




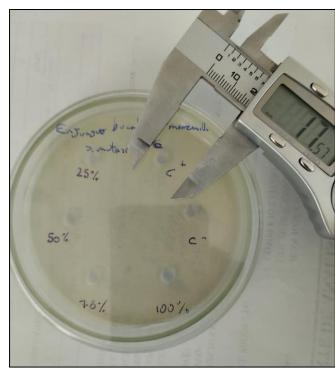












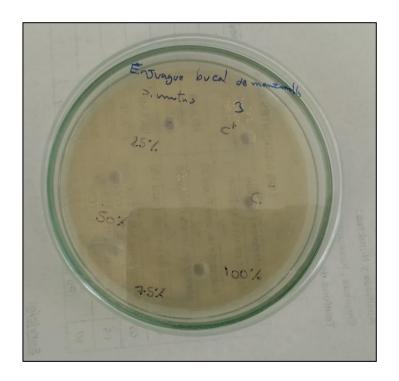
9.9.2. Análisis microbiológico durante las 48 horas

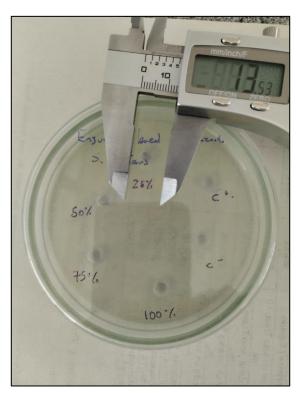


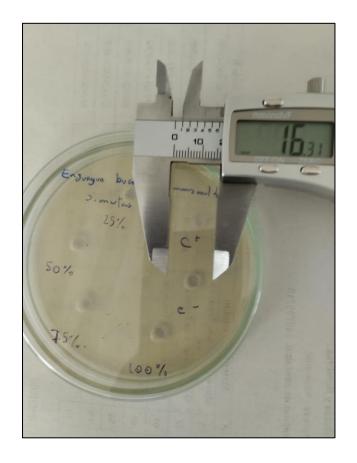


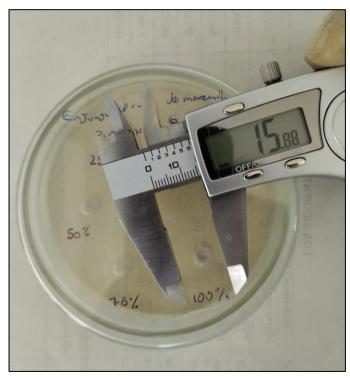












9.10. Anexo J

9.10.1. Informe de laboratorio y cálculos



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América Facultad de Farmacia y Bioquímica CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO (CCA) – CENPROFARMA



REPORTE DE ANÁLISIS Nº 00362-CCA-2024

SOLICITADO POR* : GABRIELA ALEXANDRA MEDINA ULLOA

DIRECCIÓN* : JR. LAS PLÉYADES 270 - LA CAMPIÑA CHORRILLOS
MUESTRA* : ENJUAGUE A BASE DE EXTRACTO ETANÓLICO DE

MANZANILLA

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

RECEPCIONADO

: 04 frascos de vidrio oscuros con tapa rosca negra y rotulado

a mano.

VARIEDAD RECEPCIONADA* : -

PRINCIPIO ACTIVO* : -

Nº CAS*: -

NÚMERO DE LOTE* : -

CANTIDAD : 04 frascos de 250 mL c/u

ORDEN DE ANÁLISIS : 0308-2024

FECHA DE RECEPCIÓN : 26 de noviembre del 2024

FECHA DE FABRICACIÓN* :
FECHA DE VENCIMIENTO* :

EJECUCIÓN DEL ENSAYO : Del 11 de diciembre del 2024 al 19 de diciembre del 2024

FECHA DE EMISIÓN : 20 de diciembre del 2024

ENJUAGUE A BASE DE EXTRACTO ETANÓLICO DE MANZANILLA									
MICROORGANISMO	HALOS DE INHIBICIÓN (mm) - 24 horas								
	Control positivo	Control negativo	100%	75%	50%	25%			
	18.42	6	15.85	15.23	14.93	14.41			
	18.30	6	15.74	15.28	14.98	13.72			
	16.51	6	15.90	15.57	14.88	13.8			
	16.93	6	16.13	15.54	15.08	14.1			
	16.83	6	16.04	15.31	15.10	14.00			
	17.57	6	16.03	15.51	15.12	13.7			
Streptococcus mutans ATCC 25175	16.94	6	15.77	15.20	14.60	14.18			
ATCC 25175	16.84	6	16.10	15.61	14.45	13.40			
	16.50	6	15.92	15.53	15.02	13.73			
	16.42	6	16.24	15.60	14.52	13.84			
	16.99	6	16.01	15.78	14.73	13.9			
	16.41	6	15.74	15.28	14.98	13.66			
	18.05	6	15.75	15.26	14.70	13.69			

"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América Facultad de Farmacia y Bioquímica CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO (CCA) – CENPROFARMA



	ENJUAGUE A BASE DE EXTRACTO ETANÓLICO DE MANZANILLA								
MICROORGANISMO	HALOS DE INHIBICIÓN (mm) - 48 horas								
	Control positivo	Control negativo	100%	75%	50%	25%			
	18.27	6	15.78	15.09	14.74	14.34			
	18.21	6	15.57	15.09	14.88	13.60			
	16.44	6	15.82	15.42	14.70	13.7			
	16.84	6	15.96	15.25	14.96	14.0			
	16.69	6	15.86	15.19	14.97	13.9			
	16.90	6	15.88	15.37	14.99	13.6			
Streptococcus mutans	16.76	6	15.65	15.08	14.47	13.9			
ATCC 25175	16.72	6	15.99	15.46	14.25	13.3			
	16.39	6	15.81	15.46	14.89	13.59			
	16.31	6	16.12	15.51	14.36	13.7			
	16.82	6	15.91	15.66	14.58	13.7			
	16.30	6	15.63	15.16	14.85	13.5			
	17.93	6	15.60	15.12	14.55	13.5			

^{*}El tamaño de los pocillos es de 6 mm, por lo tanto, cuando se reporta esta medida, indica que no hay formación de halos de inhibición.

REPORTE DE ANÁLISIS Nº 00362-CCA-2024



Q.F. Paul Iván Gutiérrez Elescano Director del Centro de Control Analítico

*Datos proporcionados por el cliente Los resultados son válidos solo para la muestra ensayada.

"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

^{*}Concentración del inóculo: 1x108 UFC/mL

^{*}Control negativo: Agua destilada

^{*}Control positivo: Perio - AID (proporcionado por el cliente)

9.11. Anexo K

9.11.1. Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Objetivos Hipótesis		Metodología
¿Cuál es el efecto antibacterial del enjuague bucal a base	Objetivo general Evaluar el efecto antibacterial del enjuague bucal a base del extracto	Considerando que el enjuague bucal elaborado a partir del extracto	Variable Dependiente Efecto Antibacterial del enjuague bucal a base del	Tipo de investigación Experimental in vitro, prospectivo, longitudinal
de extracto etanólico con Matricaria	etanólico de Matricaria chamomilla a concentraciones 25%, 50%, 75%,	etanólico de Matricaria chamomilla (manzanilla)	extracto etanólico de Matricaria chamomilla.	Población

chamomilla frente al	100% y clorhexidina al 0.12% frente	exhibe propiedades		Cepas de Streptococcus
Streptococcus mutans	el Streptococcus mutans spp. in vitro.	antibacterianas,	Variable Independiente	Mutans ATCC 25175.
ATCC 25175 en un		antiinflamatorias y	Enjuague bucal a base del	
estudio in vitro?	Objetivos específicos	antioxidantes, es probable	extracto etanólico de	Muestra
	Calcular el efecto antibacterial	que se observe una	Matricaria chamomilla al 25	Conformada por 13
	mediante el diámetro de los halos de	variación en el efecto	%, 50 %, 75 % y 100 %.	placas Petri, con cepas de
	inhibición del enjuague bucal	antibacterial a diferentes		Streptococcus Mutans
	elaborado de extracto etanólico de	concentraciones, en		ATCC 25175.
	Matricaria chamomilla en diferentes	comparación con la		
	concentraciones (25%,50%,75% y	clorhexidina 0.12%, frente		
	100%) frente al S. mutans durante las	a la cepa Streptococcus		
	24h.	mutans spp (ATCC		
	Calcular el efecto antibacterial	25175), en condiciones in		
	mediante el diámetro de los halos de	vitro.		
	inhibición del enjuague bucal			
	elaborado de extracto etanólico de			

Matricaria chamomilla en diferente	S	
Traditional Chambers and difference		
concentraciones (25%,50%,75% y		
100%) frente al S. mutans durante l	as	
48h.		
Calcular el efecto antibacterial		
mediante el diámetro de los halos d	e	
inhibición de la clorhexidina al 0.12	%	
frente al S. mutans durante las 24h		
• Calcular el efecto antibacterial		
Calcular el electo antibacteriar		
mediante el diámetro de los halos d	e	
inhibición de la clorhexidina al 0.12	%	
frente al S. mutans durante las 48h		
Comparar el efecto antibacterial d	el	
enjuague bucal elaborado de extrac	to	
etanólico de Matricaria chamomilla	en	
diferentes concentraciones (25%, 50	%,	
	<u> </u>	

75%, 100%) con la clorhexidir	na al	
0.12 %; mediante el promedio d	le los	
halos de inhibición frente al S. m	nutans	
durante las 24 h y 48 h, par	a	
determinar cuál presenta mej	or	
efectividad.		