



Universidad Nacional
Federico Villarreal

VRIN | VICERRECTORADO
DE INVESTIGACIÓN

Facultad de Odontología

EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE *ORIGANUM*
VULGARE Y DOS CEMENTOS ENDODÓNTICOS FRENTE AL *ENTEROCOCCUS*
FAECALIS ATCC 29212

Línea de investigación:

Salud pública

Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

Autora

Ocaña Bernal, Josselynn Rosmery

Asesora

García Rupaya, Carmen Rosa

(ORCID: 0000-0003-0657-6011)

Jurado

Mendoza Murillo, Paul Orestes

Quispe Tasayco, Lucía Marisela

Chacón Gonzáles, Doris Maura

Lima-Perú

2023

Agradecimientos

En primer lugar, agradezco a Dios, porque su gracia, amor y bendición me acompañaron durante toda mi carrera universitaria.

A mi madre Elizabeth Marlene Bernal Delgado, quien con su amor y sacrificio me inspiró a seguir adelante, gracias por tus oraciones, fueron mi soporte para cumplir mis metas.

A mis hermanas por su amor y apoyo en tiempos de desánimo.

A mi asesora, Dra. Carmen Rosa García Rupaya, quien me orientó en la realización y culminación de la presente investigación.

A los docentes de mi alma máter, por sus conocimientos brindados a lo largo de esta carrera universitaria, para quienes fueron de inspiración a ser un mejor profesional.

Dedicatoria

A Dios, por darme la vida, por ser mi guía y ayuda en todo tiempo. A mi madre, Elizabeth Marlene Bernal Delgado, por ser mi ejemplo de fortaleza, por siempre motivarme a cumplir mis sueños. A mis hermanas, Uzhiely Jhanira Cruz Bernal y Jaasiel Antuanett Cruz Bernal, por su apoyo incondicional en las labores diarias y quienes me alentaron a culminar esta meta. A mi familia y amigos que me acompañaron en mi formación profesional. A los docentes que contribuyeron en cada etapa del presente estudio.

ÍNDICE

Agradecimientos	ii
Dedicatoria.....	iii
Resumen.....	vi
Abstract.....	vii
I. Introducción.....	1
1.1 Descripción y formulación del problema	1
1.2 Antecedentes.....	3
1.3 Objetivos.....	7
<i>Objetivo general</i>	7
<i>Objetivos específicos</i>	7
1.4 Justificación	8
1.5 Hipótesis	8
II. Marco Teórico	9
2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación	9
III. Método.....	18
3.1 Tipo de investigación.....	18
3.2 Ámbito temporal y espacial.....	18
3.3 Variables.....	18
3.4 Población y muestra.....	20
3.5 Instrumentos	21
3.6 Procedimientos	21
3.7 Análisis de datos.....	26
3.8 Consideraciones éticas.....	27
IV. Resultados.....	28

V.	Discusión de resultados	38
VI.	Conclusiones.....	41
VII.	Recomendaciones	42
VIII.	Referencias	43
IX.	Anexos	49

Resumen

Objetivo: Evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare*, como coadyuvante en el cemento Endoseal y el cemento Apexit Plus frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. **Método:** el estudio fue de tipo experimental, prospectivo, longitudinal y comparativo, para determinar el efecto antibacteriano se cultivó cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en 54 placas Petri con agar Mueller Hinton, divididas en tres grupos, donde se utilizó el aceite esencial de *Origanum vulgare* en concentraciones de 100%, 75% y 50%, cemento Endoseal y Apexit Plus, y las mezclas de cada cemento con las diferentes concentraciones de aceite esencial, los halos fueron medidos a las 24 horas. **Resultados:** Los promedios de halos de inhibición obtenidos a las 24 horas, fueron los siguientes: Al usar solo el aceite esencial de *Origanum vulgare* al 100% de concentración se obtuvo 26.87 ± 5.9 mm, al 75% se obtuvo 19.75 ± 5.9 mm, y al 50% se obtuvo 11.99 ± 2.16 mm, en la mezcla de aceite esencial de *Origanum vulgare* al 100% con Apexit Plus se obtuvo 15.67 ± 1.75 mm y con Endoseal se obtuvo 15.53 ± 2 mm. **Conclusión:** Las tres concentraciones de aceite esencial de *Origanum vulgare* utilizadas demostraron actividad antibacteriana, siendo la concentración al 100% quien presentó los halos de inhibición de mayor diámetro, asimismo, al utilizar el aceite esencial de *Origanum vulgare* como coadyuvante a los cementos endodónticos, la concentración al 100% fue el que produjo mayor aumento de diámetro en los halos de inhibición.

Palabras clave: aceite esencial, antibacteriano, cemento endodóntico, *Enterococcus faecalis*.

Abstract

Objective: To evaluate the antibacterial effect of essential oil of *Origanum vulgare*, as adjuvant between Endoseal cement and Apexit Plus cement against to *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. **Method:** the study was experimental, prospective, longitudinal and comparative, to determine the antibacterial effect strains of *Enterococcus Faecalis* were cultivated in 54 petri dishes, divided in three groups where the essential oil was used in concentrations of 100%, 75% y 50%, Endoseal and Apexit Plus cement y both mixed with the different concentrations of essential oil, the halos were measured at 24 hours. **Results:** The average inhibition halos obtained after 24 hours were: using only the essential oil at 100% was 26.87 ± 5.9 mm, 75% was 19.75 ± 5.9 mm, at 50% was 11.99 ± 2.16 mm, mixing the essential oil at 100% and Apexit Plus was 15.67 ± 1.75 mm and with Endoseal was 15.53 ± 2 mm. **Conclusion:** the three concentrations of essential oil of *Origanum vulgare* utilized shown antibacterial effect, being concentration at 100% the one that presented the largest inhibition halos diameter, likewise, when using the essential oil of *Origanum vulgare* as adjuvant to the endodontic cements, the concentration at 100% was the one that produced larger inhibition halos diameter.

Key words: essential oil, antibacterial, endodontic cement, *Enterococcus faecalis*.

I. Introducción

La posibilidad de un fracaso post tratamiento de conducto siempre está latente, debido a ello, existe la necesidad de advertir las propiedades terapéuticas de los productos con los que se trabaja, siendo así, es importante conocer el efecto antibacteriano de los cementos endodónticos utilizados en la práctica diaria de la profesión, cuanto más, si el cemento endodóntico es usado en la etapa final del tratamiento de conducto, llamado obturación, teniendo un papel fundamental ya que, es aquel material que cumple la función de unión entre el material de obturación y la pared del conducto radicular, y asimismo, rellenar los conductos laterales y/o accesorios existentes (Cohen et al., 2011); es crucial la propiedad bactericida de los cementos endodónticos a fin de asegurar el éxito terapéutico (Ferrer et al., 2014), ya que, se estarían disminuyendo las causas de posibles fracasos post tratamiento de conducto (Negroni, 2009), aunado a ello, es importante conocer alternativas coadyuvantes a los cementos endodónticos, los cuales podrían potenciar el efecto antibacteriano de los materiales existentes, para que posteriormente, sean la base de elaboración de nuevos cementos endodónticos con sustancias poco conocidas pero con grandes beneficios terapéuticos. Existe poca evidencia científica sobre el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare*, por tal motivo, el presente estudio pretende demostrar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare*, como coadyuvante en el cemento Endoseal y el cemento Apexit Plus frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, para obtener mejores resultados en los tratamientos endodónticos que se realizan en la práctica profesional.

1.1 Descripción y formulación del problema

Los cementos endodónticos tienen un papel fundamental, ya que son el elemento final que tiene contacto directo con los microorganismos que no se eliminaron en los pasos

anteriores del tratamiento de conducto, es por ello su importancia y la necesidad de una elección correcta.

En el mercado existen diversos tipos de cementos endodónticos, que contienen diferente composición, para el odontólogo es difícil saber cuál de ellos tendrá una mejor actividad antibacteriana, según el diagnóstico de cada paciente, y así disminuir la probabilidad de un fracaso post tratamiento de conducto, es por ello la importancia de investigar sobre ello. A la vez es necesario evaluar otras sustancias, como aquellas a base de aceites esenciales de plantas naturales, diversas investigaciones han permitido establecer su actividad antibacteriana y antimicótica, lo cual puede ser un gran coadyuvante para los cementos endodónticos existentes, así como, la base para fabricación de nuevos cementos endodónticos.

El *Enterococcus* tiene la capacidad de crecer en un caldo que contenga 6,5 % de cloruro de sodio, su poder de sobrevivencia después del calentamiento a 60 °C durante 30 min y su habilidad para crecer en un caldo de cultivo a 10 °C y a 45 °C (Barrow, 1993).

Por tanto, se desprende que el *Enterococcus faecalis* tiene una gran capacidad para sobrevivir y crecer en microambientes que pudieran ser tóxicos para muchas bacterias, en particular zonas con altas concentraciones de sales, temperaturas extremas (Barrow, 1993). Esto se ve relacionado con su capacidad de supervivencia en los conductos radiculares de dientes que han sido sometidos a tratamiento endodóntico, en los cuales los nutrientes son limitados, como también su existencia en diagnósticos como periodontitis apical persistente en los cuales tiene un alto porcentaje de prevalencia, causando el fracaso en dientes tratados endodónticamente.

El objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* frente al *Enterococcus faecalis*, el cual podría ser usado como coadyuvante a los cementos endodónticos que son usados en la obturación de conductos radiculares en piezas dentarias sometidas a tratamiento de conducto, por tanto, ello me lleva a

la siguiente pregunta: ¿Cuál es el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare*, el cemento Endoseal y el cemento Apexit Plus frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212?

1.2 Antecedentes

1.2.1 Antecedentes nacionales

Chambilla (2021), en Tacna, Perú, realizó un estudio cuyo objetivo fue comparar la eficacia antimicrobiana de cementos selladores usados en el área de endodoncia (a base de resina, hidróxido de calcio, óxido de zinc y eugenol) frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Streptococcus mutans* ATCC 2517 y *Candida albicans* ATCC 10231. Obtuvo como resultado que, el cemento a base de óxido de zinc y eugenol mostró el mejor efecto antimicrobiano contra las tres cepas (S.M-23,283 mm, E.F-8,468mm, C.A- 21,965mm), seguido del cemento a base de resina (S.M-21,262mm, E.F-6,642mm, C.A- 8,781mm), y el de hidróxido de calcio (S.M-13,010 mm, E.F-6,165mm, C.A- 5,640mm).

Gonzales (2020), en Lima, Perú, realizó una investigación cuyo objetivo fue determinar la capacidad antibacteriana de dos cementos endodónticos a base de hidróxido de calcio y óxido de zinc frente a cepas de *Enterococcus faecalis*. A las 24 horas se obtuvo como resultado que el gluconato de clorhexidina al 2% (20.6mm) mostró mayor capacidad antibacteriana seguida del Sealer 26 (14.3mm), Endoseal (12.4mm) y finalmente por el Suero fisiológico (6.0mm).

Moromi et al. (2018), en Lima, Perú, realizaron un estudio cuyo objetivo fue determinar el efecto antibacteriano in vitro de la oleoresina de copaiba y el aceite esencial de orégano frente a las cepas de *E. faecalis* y *S. mutans*. En el aceite de orégano obtuvieron como resultado halos a la concentración del 100 % con un promedio de $25,3 \pm 0,96$ mm para *S. mutans* y para *E. faecalis* de $9,5 \pm 1,29$ mm.

Heredia et al. (2017), en Lima, Perú, realizaron un estudio cuyo objetivo fue la comparación de la eficacia antibacteriana sobre el *Enterococcus faecalis*, de tres cementos

selladores de obturación utilizados en la terapia endodóntica, determinada mediante la medición del tamaño del halo inhibitorio. Obtuvieron como resultado que el sellador a base de resina epóxica (TOPSEAL) presentó un halo de inhibición de 7,7 mm, el sellador a base de hidróxido de calcio (SEALAPEX) provocó un halo inhibitorio de 6,0 mm y el sellador a base de óxido de zinc y eugenol (GROSSFAR) presentó un halo de inhibición de 8,4 mm, siendo el de mayor eficacia de los tres selladores utilizados en este estudio.

Malpartida (2017), en Lima, Perú, realizó un estudio cuyo objetivo fue determinar el efecto inhibitor de las concentraciones mínimas del aceite esencial de muña y orégano en comparación con sustancias antimicrobianas usadas en la terapia pulpar frente a cepas de *Enterococcus faecalis*. Obtuvo como resultado, que el efecto inhibitor del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 100% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 horas fue de 7,56 mm. $\pm$ 1,5 mm. y a las 48 horas fue 6,82 mm. $\pm$ 2,21 mm.

Malca (2016) en Trujillo, Perú realizó un estudio cuyo objetivo fue determinar el efecto sinérgico in vitro del *Origanum vulgare* y la penicilina. sobre la resistencia del *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Obteniendo como resultado que en el que el grupo sólo de aceite esencial la concentración que registró el mayor promedio de halo de inhibición siendo la concentración 100% =23.0mm, la concentración del 75% = 12.6mm y en lo que se refiere al grupo penicilina más aceite esencial, el mayor promedio se registró en el grupo Penicilina + Aceite Esencial *Origanum vulgare* 100% =21.7mm.

Valdivia (2011), en Trujillo, Perú, realizó un estudio cuyo objetivo fue Determinar el efecto antimicrobiano de los cementos endodónticos Endofill, Apexit Plus y Fillcanal, sobre el crecimiento de *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas. Obtuvo como resultado que, a las 24 horas, sobre el *Enterococcus faecalis*, el cemento Endofill presentó como promedio de halo de inhibición 8.625, el cemento Fillcanal presentó 7.906mm, el Apexit Plus no presentó efecto antimicrobiano.

García y Arashiro (2008), en Lima, Perú, realizaron un estudio cuyo objetivo fue determinar el efecto antibacteriano de tres cementos endodónticos (Super EBA, Ketac Endo y MTA) frente a tres especies bacterianas potencialmente patógenas de la pulpa y periápice radicular (*Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*). Para el *Enterococcus faecalis*, obtuvieron como resultado que al usar el cemento Super EBA se presentó un halo de inhibición de 10,35mm, ante el cemento Ketac Endo se obtuvo 7,3 mm de halo de inhibición, y ante el cemento MTA se obtuvo 9,5mm.

Baldwin y Castro (2007), en Lima Perú, realizaron una investigación que tuvo como objetivo determinar la diferencia en la capacidad antibacteriana entre los cementos endodónticos AH 26, Sealer 26, Roeko seal y tipo Grossman frente al *Enterococcus faecalis*. Obtuvieron que el cemento Roeko seal no presentó halo de inhibición mientras que los otros tres cementos sí presentaron el halo de inhibición. El mayor halo lo presentó el cemento AH 26 (18,5 mm.), después el Sealer 26 (15mm), luego el tipo Grossman (14,7mm), Roeko Seal (6,00mm).

1.2.2 Antecedentes internacionales

Kapralos et al. (2017), en Oslo, Noruega, realizaron una investigación con el objetivo de determinar la actividad antibacteriana de los selladores AH Plus, sellador TotalFill BC, RoekoSeal y Guttaflow 2 para detectar biopelículas de *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus mutans* cultivadas en plancton a las 24 horas. Obtuvieron como resultado, que AH Plus tuvo una alta actividad antibacteriana hacia todas las especies investigadas.

Tapia (2016), en Quito, Ecuador, realizó un estudio con el objetivo de determinar el efecto antimicrobiano in vitro de diferentes selladores endodónticos, a base de Hidróxido de Calcio, Resina Epóxica y Silicona; mediante la formación de halos de inhibición sobre la cepa ATCC 29212 de *Enterococcus faecalis*. Obtuvo como resultado que, el sellador AH Plus tuvo

la mayor zona de inhibición, siendo que a las 24 horas los promedios de halo inhibitorio fueron los siguientes: AH PLUS = 8.65mm, ROEKO SEAL = 6.00mm, APEXIT PLUS = 6.00mm.

Gürel et al. (2016), en Samsun, Turquía, realizaron un estudio cuyo objetivo fue evaluar la actividad antimicrobiana de cementos biocerámicos Smartpaste Bio, MTA Fillapex y AH plus frente a *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Escherichia coli*. Obtuvieron como resultado que, sobre el *Enterococcus faecalis*, el sellador Smartpaste Bio tuvo la mayor zona de inhibición y la más baja el MTA Fillapex, siendo que a las 24 horas los promedios de halos de inhibición fueron los siguientes: Smartpaste Bio = 11.75 ± 0.42 mm, MTA Fillapex = 6.00 ± 0.36 mm, AH Plus = 7.00 ± 0.44 mm.

Habeeb (2014), en Bagdad, Irak, realizó un estudio con el objetivo de evaluar la acción antibacterial de cementos endodónticos frente a patógenos endodónticos (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus Aureus* y *Candida Albicans*). Obtuvo como resultado que, sobre el *Enterococcus faecalis*, el cemento Endofill mostro la mayor actividad antibacterial (4.4mm), GuttaFlow mostro efecto moderado (2.4mm), Apexit mostro un mal efecto (0.6mm), mientras que AH Plus no mostro ningún efecto.

Nirupama et al. (2014), India, realizaron un estudio cuyo objetivo fue evaluar la acción antimicrobiana de cuatro biomateriales endodónticos frente al *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus*, los cementos utilizados fueron AH Plus, Tubliseal EWT, EndoRez e iRoot SP. Obtuvieron como resultado que, el cemento AH Plus e iRoot SP tuvieron la mejor actividad antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis*, mientras que Tubliseal EWT y AH Plus tuvieron la mejor actividad antimicrobiana frente a *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus*.

Tanomaru et al. (2009), en Caracas, Venezuela, realizaron un estudio con el objetivo de evaluar la actividad antimicrobiana de los cementos endodónticos a base de resina (Epiphany, Sealer 26 e AH Plus), cementos a base de silicona (Roeko Seal) y cementos de

óxido de zinc y eugenol (Intrafill), sobre cinco diferentes especies de microorganismos. Obtuvieron como resultado que, los promedios de halo inhibitorio de los cementos endodónticos frente al *Enterococcus faecalis* fueron los siguientes: Epiphany = 14mm, Sealer 26 = 7mm, AH Plus = 9mm, Intrafill = 8mm, Roeko Seal = 0mm.

Piotto et al. (2009), Brasil, realizaron un estudio con el objetivo de determinar la actividad antimicrobiana de varios cementos endodónticos, tales como, Endofill, Sealer 26, AH Plus y Acroseal frente a *E. coli*, *E. faecalis*, *B. cereus* y *S. aureus*. Obteniendo como resultado que, el cemento Acroseal frente a *E. Faecalis*: 0mm, AH Plus frente a *E. Faecalis*: 12mm, Sealer 26 frente a *E. Faecalis*: 8mm, y el cemento Endofill frente a *E. Faecalis*: 9,67±0.58mm.

1.3 Objetivos

Objetivo general

Evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare*, como coadyuvante en el cemento Endoseal y el cemento Apexit Plus frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Objetivos específicos

- Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* al 100%, 75% y 50% de concentración frente al *Enterococcus faecalis* a las 24 horas.
- Determinar el efecto antibacteriano del cemento Endoseal frente al *Enterococcus faecalis* a las 24 horas.
- Determinar el efecto antibacteriano del cemento Apexit Plus frente al *Enterococcus faecalis* a las 24 horas.
- Determinar el efecto antibacteriano de la unión del cemento Endoseal con el aceite esencial de *Origanum vulgare* al 100%, 75% y 50% de concentración, frente al *Enterococcus faecalis* a las 24 horas.

- Determinar el efecto antibacteriano de la unión del cemento Apexit Plus con el aceite esencial de *Origanum vulgare* al 100%, 75% y 50% de concentración, frente al *Enterococcus faecalis* a las 24 horas.

1.4 Justificación

El presente estudio busca determinar el efecto antibacteriano que posee el aceite esencial de *Origanum vulgare*, y dos cementos endodónticos (Endoseal y Apexit Plus) frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, de esta manera el odontólogo conocerá que agente es más eficaz al obturar un conducto, ya que es de suma importancia disminuir las causas de fracasos en tratamientos de conductos y lograr el éxito del mismo.

Asimismo, es necesario buscar nuevos agentes antibacterianos para ser usados en tratamientos odontológicos en base a productos naturales, ya sea como coadyuvantes o creación de cementos en base a ellos. La bacteria sobre la cual se evaluará la actividad antibacteriana será el *Enterococcus faecalis* ya que tiene una gran capacidad para sobrevivir y crecer en microambientes que pudieran ser tóxicos para muchas bacterias, y a la vez se encuentra presente en un gran porcentaje de casos en los cuales hubo fracaso post tratamiento endodóntico.

1.5 Hipótesis

El aceite esencial de *Origanum vulgare* incrementa el efecto antibacteriano del cemento Endoseal y del cemento Apexit Plus frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

II. Marco Teórico

2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación

2.1.1 Microbiología oral

La microbiología oral estudia a los microorganismos propios de la cavidad bucal, ya que es parte de la microbiología médica y clínica también estudiará la respuesta frente a la presencia de aquellos microorganismos, asimismo, analiza las relaciones que los microbios establecen entre sí, así como, su relación con los tejidos de la boca y el rol que ejercen en las enfermedades infecciosas locales como sistémicas (Liébana, 2002).

Los enterococos son microorganismos que tienen forma ovoide, son anaerobios facultativos, catalasa negativos y cocos grampositivos (Murray, 1990).

Los enterococos tienen capacidad para crecer en un caldo que contenga 6,5% de cloruro de sodio, pueden sobrevivir a mas de 60°C durante 30 minutos, asimismo, tienen gran habilidad para crecer en caldos de cultivo a 10°C y a 45°C, estas son características que permiten diferenciar a los *Enterococcus* de los *Streptococcus* (Barrow, 1993).

Antes de 1984, los enterococos se clasificaban como estreptococos del grupo D debido a que poseen el antígeno de la pared celular del grupo D, posteriormente se clasificaron en el género *Enterococcus*, el cual consta de 29 especies, las especies que con mayor frecuencia se aíslan y que clínicamente son las más importantes son los *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*, los *Enterococcus gallinarum* y *Enterococcus casseliflavus* son habituales colonizadores del aparato digestivo del ser humano (Murray, 2006).

Los enterococos se aíslan generalmente a partir de las heces del ser humanos y de diferentes animales, gran variedad de los microorganismos que pertenecen a la especie *E. faecalis* se hallan en el intestino grueso y en el aparato genitourinario (Murray, 2006). Se desarrollan con facilidad en el medio de cultivo agar sangre y agar chocolate (Murray, 2006).

Los enterococos se encuentran en las infecciones endodónticas persistentes debido a su capacidad de multiplicación y de traslado desde el interior del conducto hasta tejidos periapicales, son resistentes a los cambios de ambiente que pueden surgir antes, durante y después del tratamiento, por lo que son responsables del fracaso endodóntico (Canalda, 2006).

El *Enterococcus faecalis* tiene una amplia variedad de factores de virulencia, esta relacionado con infecciones endodónticas post tratamiento (Negroni, 2009). La presencia de *Enterococcus faecalis* es ligada a la periodontitis apical resistente (Bodrumlu y Semiz, 2006).

Los enterococos presentan una resistencia de bajo nivel a los aminoglucósidos, por lo que deben utilizarse discos con mayores concentraciones de antibiótico que las habituales para detectar una resistencia de alto nivel que elimine el efecto sinérgico, estos microorganismos son resistentes a oxacilina, cefalosporinas, clindamicina y cotrimoxazol (Instituto Nacional de Salud, 2002).

ANTIMICROBIANO	CONTENIDO DEL DISCO	DIAMETRO EN MM		
		R	I	S
PENICILINAS				
Ampicilina	10 µg	£ 16	-	³ 17
GLICOPEPTIDOS				
Vancomicina	30 µg	£ 14	15-16	³ 17
Teicoplanina	30 µg	£ 10	11-13	³ 14
AMINOGLUCOSIDOS				
Gentamicina	120 µg	6	7-9	³ 10
Estreptomicina	300 µg	6	7-9	³ 10
FLUOROQUINOLONAS				
Ciprofloxacina	5 µg	£ 15	16-20	³ 21
Levofloxacina	5 µg	£ 13	14-16	³ 17
Norfloxacina	10 µg	£ 12	13-16	³ 17
TETRACICLINA				
Tetraciclina	30 µg	£ 14	15-18	³ 19
MACROLIDOS				
Eritromicina	15 µg	£ 13	14-22	³ 23
OTROS				
Rifampicina	5 µg	£ 16	17-19	³ 20
Nitrofurantoína	300 µg	£ 14	15-16	³ 17

Nota. El gráfico representa los Antibióticos y diámetros críticos para *Enterococcus* spp.

Tomado de *Manual de Procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el Método de Disco Difusión*, de Instituto Nacional de Salud, 2002, p. 24.

2.1.2 Endodoncia

La endodoncia es una ciencia cuyo objetivo es el estudio de la estructura, morfología, fisiología y patología de la pulpa dental y de los tejidos perirradiculares, la endodoncia integra ciencias básicas y clínicas que se encargan de la biología de la pulpa, también, la etiopatogenia, el diagnóstico, la prevención y el tratamiento de las enfermedades de la pulpa y de los tejidos perirradiculares (Canalda, 2014).

El tratamiento endodóntico tiene como finalidad la erradicación de los microorganismos que se hallan en los conductos radiculares, así como, evitar el ingreso de microorganismos al conducto (Spoleti, 2013).

La cavidad bucal posee una microbiota compleja, para el 2009 se calculaban que existieran mas de 700 especies (Negroni, 2009).

Los enterococos sobreviven en los conductos radiculares como organismo único, los cementos endodónticos pueden ayudar en el control de la infección contra el *Enterococcus faecalis*, debido a la actividad antibacteriana que poseen (Bodrumlu y Semiz, 2006).

En los tratamientos de conductos se requiere que los cementos endodónticos tengan una acción antimicrobiana, a fin de eliminar las bacterias mas resistentes que puedan encontrarse en el conducto radicular, de esta manera se evitará una reactivación futura de las colonias de microorganismos (Brito et al., 2016).

En conductos con infección primaria usualmente se encuentran bacterias anaerobias estrictas, y en piezas dentarias con tratamientos de endodoncia fallido se suele encontrar bacterias anaerobias facultativas (Guijarro, 2017).

2.1.3 Cemento endodóntico

El cemento debido a sus características físicas ocupa el espacio que la gutapercha no puede llegar a obturar, adhiriéndose con fuerza a la dentina y al material de obturación(gutapercha) (Cohen et al., 2011). Los cementos suelen componerse de polvo y

líquido, al presentar reacción de fraguado se debe preparar al momento de uso (Leonardo, 2005).

Grossman señaló que el cemento ideal durante la mezcla debe tener consistencia pegajosa para que al fraguarse brinde una adecuada adherencia con la pared del conducto, debe brindar un sellado hermético, debe distinguirse en las radiografías (el material debe ser radiopaco), ser fácil de mezclar, no contraerse al fraguar, no teñir la estructura dentaria, tener propiedades antibacterianas, o al menos no favorecer la proliferación bacteriana, ser de fraguado lento, insoluble en el fluido bucal, presentar biocompatibilidad, estimular o permitir la aposición de tejido mineralizado a nivel apical (Grossman et al., 1988). “Los selladores idealmente deben ser antimicrobianos, papel importante en el éxito del tratamiento de los conductos radiculares” (Cohen et al., 2011, p.263).

Los cementos no deben generar reacciones inmunitarias al tener contacto con los tejidos periapicales, y no deben ser mutagénicos ni cancerígenos (Ingle, 2008).

A pesar de no existir cementos que puedan eliminar en su totalidad a los microorganismos que quedan luego de la instrumentación mecánica y química realizada en el tratamiento de conductos, es de suma importancia que estos cementos posean algún tipo de actividad antimicrobiana (Ferrer et al., 2014).

Actualmente existen una gran variedad de cementos endodónticos, diferenciados entre sí por su composición, entre ellos tenemos:

Los cementos a base de óxido de zinc y eugenol, desarrollados por Grossman en el año 1936, se usaron juntamente a conos de gutapercha para la obturación de conductos radiculares, al inicio se componían de óxido de zinc, eugenol, plata precipitada y óxido de magnesio, teniendo como inconveniente la formación de sulfatos por la plata, produciendo tinción en los dientes. En 1958, se reemplazaron estos productos por surcarbonato de bismuto y sulfato de bario, surgiendo el “New Grossman Sealer” que fue reformulado después usando solamente

eugenol como líquido, siendo denominado Proco-Sol (Leonardo, 2005). El óxido de zinc presenta propiedades antimicrobianas y proporciona citoprotección a las células tisulares, el eugenol se une al óxido de zinc como vehículo de mezcla (Cohen et al., 2011). Uno de los cementos endodónticos usados en clínica, a base de óxido de zinc y eugenol, es el Endoseal, el cual es una pasta radiopaca, no reabsorbible para la obturación permanente del conducto radicular, su composición es bien tolerada por los tejidos y proporciona acciones antiinflamatorias, antisépticas y germicidas (PREVEST DenPro, 2021).

Los cementos a base de hidróxido de calcio tuvieron como objetivo reunir las propiedades biológicas del hidróxido de calcio puro, mejorando sus propiedades físico-químicas y logrando un buen sellado del conducto radicular; posee como desventaja el nivel inferior de adherencia a la dentina radicular y su penetración en los túbulos dentinarios frente a otros cementos. Entre los cementos a base de hidróxido de calcio tenemos al cemento Sealer 26, el cual está compuesto por trióxido de bismuto, hidróxido de calcio, hexametileno tetramida, dióxido de titanio y resina epoxi bisfenol (Leonardo, 2005).

Otro cemento endodóntico a base de hidróxido de calcio es el Apexit Plus, el cual es un sellador de canales radiculares con base de hidróxido de calcio, radio opaco y libre de contracción, está especialmente indicado para el sellado definitivo de los canales radiculares y se puede emplear en todas las técnicas de obturación donde se use gutapercha (Ivoclar, 2022).

2.1.4 Orégano

Origanum vulgare es una planta que pertenece a la familia Labiatae, proviene de la región mediterránea de Europa, el cultivo de este es muy esparcido en Grecia, Italia, España, Turquía, Francia, Albania, Yugoslavia y Marruecos; los principales productores en América son México, Brasil, Chile y Costa Rica. (Klauer, 2009). Los centros de producción en el Perú se encuentran en el departamento de Tacna, Moquegua, Arequipa y Junín.

Las plantas que pertenecen a las familias Labiadas contienen un compuesto o principio activo propio, ofreciendo posibilidades para la búsqueda de principios bioactivos o Etnomedicina siendo una alternativa de uso de antisépticos estándar (Albado et al., 2001).

Para la obtención de aceite esencial de orégano se utilizan las muestras desecadas de hojas y tallos de orégano, las cuales son molidas y trasladadas al tubo de extracción de un equipo para destilación por arrastre de vapor de agua; el aceite se separa de la capa acuosa, se seca con sulfato de sodio y se filtra (Albado et al., 2001).

El orégano, al ser usado en extractos acuosos y aceites esenciales, esta compuesto químicamente por flavonoides como la apigenina y la luteolina, agliconas, alcoholes alifáticos, compuestos terpénicos y derivados del fenilpropano (Arcila et al., 2004).

El aceite esencial de orégano posee gran cantidad de fenoles, como el carvacrol y timol, produciendo una alta capacidad antimicrobiana, ambos componentes son capaces de desintegrar la membrana externa de las bacterias gramnegativas, liberan los polisacáridos y aumentan la permeabilidad de la membrana citoplasmática de ATP (Boskovic et al., 2015).

Los aceites esenciales de las especies del género *Origanum* presentan actividad contra bacterias gramnegativas como *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia enterocolitica* y *Enterobacter cloacae*; y contra las grampositivas como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Listeria monocytogenes* y *Bacillus subtilis*. Tienen además capacidad antifúngica contra *Cándida albicans*, *C. tropicalis*, *Torulopsis glabrata*, *Aspergillus Níger*, *Geotrichum* y *Rhodotorula*. Los fenoles (carvacrol y timol) que posee el aceite esencial de orégano presenta los niveles más altos de actividad contra microorganismos gramnegativos, excepto para *P. aeruginosa*, siendo el timol más activo (Arcila et al., 2004).

En los aceites esenciales pueden encontrarse hidrocarburos alicíclicos y aromáticos, así como sus derivados oxigenados (alcoholes, aldehídos, cetonas y ésteres), sustancias azufradas

y nitrogenadas, los compuestos más frecuentes son derivados del ácido mevalónico y se les clasifica en monoterpenoides y sesquiterpenoides (Arcila et al., 2004).

Para la extracción de aceites esenciales se utiliza como método convencional: la destilación con arrastre de vapor y el uso de solventes orgánicos; los rendimientos de extracción generalmente van desde el 1.8% hasta el 5.6%; se han logrado identificar hasta 56 compuestos (Arcila et al., 2004).

El aceite esencial de orégano posee gran actividad antimicrobiana, brindando efecto sinérgico en combinación con otros antibióticos como la Gentamicina contra cultivos de *E. coli.*, lo cual potencia el efecto antimicrobiano (Chávez et al., 2008).

2.1.5 Medio de cultivo

Los medios de cultivos son preparados que intentan reproducir las condiciones del hábitat natural de los agentes bacterianos, de una forma artificial, los componentes de los medios de cultivos deben abastecer las necesidades nutricionales de las bacterias que se estudiarán, la mezcla debe ser justa y equilibrada, para producir su crecimiento y su multiplicación. La siembra consiste en la inoculación del microorganismo (o muestra clínica que lo contenga) en el medio de cultivo. Las bacterias tienen diferentes características nutricionales, algunas son más exigentes que otras, las cuales necesitan algún tipo de sustancia en particular, algunas bacterias son más difíciles de cultivar (Liébana, 2002).

El método de dilución consiste en la cuantificación (*in vitro*) de los antimicrobianos, los cuales radican en la determinación del crecimiento de los microorganismos en presencia de concentraciones crecientes del antimicrobiano en el medio de cultivo, el cual puede ser un agar o un caldo (Picazo, 2000).

Los métodos de dilución se utilizan para la determinación cuantitativa de la actividad de los antimicrobianos, asimismo para determinar la actividad bactericida; para una correcta

evaluación se debe realizar de forma estandarizada, debido a la gran cantidad de variables que influyen en estos métodos (Picazo, 2000).

La dilución en agar es el método que incorpora el antimicrobiano a evaluar a un medio con agar, el antimicrobiano se coloca cuando el medio este fundido, para lograr el rango de dilución se prepara diversas placas, cada una debe contener una determinada concentración de antimicrobiano; para la inoculación se utilizará un replicador, esto se realizará luego de la solidificación del medio de cultivo (Picazo, 2000).

Los medios de cultivo suelen obtenerse de distribuidores comerciales, quienes indican las condiciones para su preparación, el cual debe ser esterilizado, luego debe dejarse enfriar a unos 50°C antes de añadir suplementos (si es necesario) y las soluciones con antimicrobiano. El pH del medio, una vez sólido y con los suplementos que se requieran, ha de estar entre 7.2 y 7.4; al verter el medio sobre placas de Petri estériles, se debe evitar la formación de burbujas, ya que, podrían dificultar la posterior inoculación de las placas. El medio de cultivo a emplear, en la mayoría de casos, es agar Mueller-Hinton, pero en función de los microorganismos y de sus necesidades nutritivas podría añadirse algún suplemento a este medio, o emplear un medio diferente (Picazo, 2000).

En placas Petri circulares de 90 mm de diámetro son necesarios 20 ml de medio con antimicrobiano (habitualmente en la proporción 19 ml de medio por 1 ml de solución de la correspondiente concentración de antimicrobiano), estas placas se dejan solidificar para su uso de inmediato o se pueden almacenar en frigorífico (Picazo, 2000).

Para estudios de referencia, las placas a utilizar no se deben almacenar más de cinco días; las placas que se utilicen en algunos antimicrobianos como la ampicilina, metilicina, imipenem y ácido clavulánico, deben ser las que se prepararon el mismo día, ya que, los mencionados antimicrobianos son poco estables a 4-8°C. Luego de sacar las placas del frigorífico, se deben dejar a temperatura ambiente unos 30 minutos antes de realizar su

inoculación, asimismo, se debe comprobar que no debe existir agua de condensación en su superficie, las placas que estén húmedas se pueden secar en la estufa dejando las tapas entreabiertas (Picazo, 2000).

En cada serie de concentraciones se debe introducir placas de medio sin antimicrobiano, los cuales servirán como control del crecimiento y la posibilidad de que exista algún tipo de contaminación durante el proceso de inoculación (Picazo, 2000).

El agar Mueller Hinton es el medio base recomendado para realizar un antibiograma por difusión, debido a que su reproducibilidad es aceptable, tiene baja concentración de inhibidores, posee condición crítica para evaluar sulfonamidas, trimetoprim y tetraciclina, ayuda en el crecimiento satisfactorio de patógenos no fastidiosos, y por la existencia de diversos estudios de susceptibilidad (Cona, 2002).

En la preparación del agar Mueller Hinton se utiliza el Agar base deshidratado, el cual luego del Post autoclavado se enfría en baño a 45-50° C, luego se vierte en placas en superficie horizontal 4 mm de profundidad, a un volumen de 60-70 ml para placas de 150 mm y 25-30 ml para placas de 100 mm, después se deja enfriar a temperatura ambiente, para finalmente ser almacenadas en refrigeración (4-8 °C), su duración es de 7 a 14 días (en manga de polietileno), se debe realizar control de esterilidad y calidad de la preparación realizada (Cona, 2002).

El halo de inhibición es la zona que se forma alrededor del disco del antibiótico, zona donde no hay crecimiento bacteriano, es decir, si el microorganismo es sensible al antimicrobiano, formará un halo de inhibición visible y medible luego de la incubación, el diámetro que se forma va a determinar si existe resistencia al antimicrobiano o sensibilidad (Mühlhauser, 2014).

III. Método

3.1 Tipo de investigación

Experimental: El investigador interviene en el fenómeno que se analizará (actividad antibacteriana).

Prospectivo: El registro de la información se realizará después de la colocación de los agentes (Aceite esencial de *Origanum vulgare*, el cemento Endoseal y el cemento Apexit Plus) sobre las cepas sembradas.

Longitudinal: La medición se realizará a las 24 horas.

Comparativo: Se comparará la medida de cada halo de inhibición que produce cada agente (Aceite esencial de *Origanum vulgare*, el cemento Endoseal, el cemento Apexit Plus y las combinaciones del Aceite esencial de *Origanum vulgare* con cada cemento endodóntico).

3.2 Ámbito temporal y espacial

Las muestras se procesaron en el laboratorio de microbiología del Laboratorio clínico Biolab & Inmunomed, en el año 2021.

3.3 Variables

	VARIABLE	DIMENSIÓN	INDICADOR	ESCALA
Variable Dependiente	Efecto Antibacteriano.	-----	Diámetro del halo de inhibición.	Razón
Variable Independiente		Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> .	Concentración al 100%,75% y 50%.	Nominal

	Sustancias y cementos experimentales	Tipo de cemento endodóntico.	i. Cemento a base de óxido de zinc y eugenol (Endoseal) ii. Cemento a base hidróxido de calcio (Apexit Plus)	Nominal
		Unión de aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> y cemento endodóntico.	i. A.O.100%+ Endoseal. ii. A.O.75%+ Endoseal iii. A.O.50%+ Endoseal iv. A.O.100%+ Apexit plus v. A.O.75%+ Apexit plus vi. A.O.50%+ Apexit plus	Nominal

Nota. A.O.: Aceite esencial de *Origanum vulgare*

Variable dependiente

Efecto antibacteriano: Capacidad de destruir o inhibir el crecimiento bacteriano que posee un agente antimicrobiano (Paredes, 2004).

Variable independiente

a. Aceite esencial de *Origanum vulgare*: Compuesto principal del orégano, contiene más de 34 compuestos activos dentro de los cuales están los fenoles (Villar, 2001).

b. Cementos endodónticos: Agentes de unión que rellenan las irregularidades del conducto y las discrepancias entre la pared del conducto radicular y el material de obturación (Cohen et al., 2011).

b.1 Endoseal: Cemento a base de óxido de zinc y eugenol.

b.2 Apexit Plus: Cemento a base hidróxido de calcio.

c. Unión de aceite esencial de *Origanum vulgare* y cemento endodóntico:

- c.1 Aceite de *Origanum vulgare* 100% + Endoseal.
- c.2 Aceite de *Origanum vulgare* 75% + Endoseal.
- c.3 Aceite de *Origanum vulgare* 50% + Endoseal.
- c.4 Aceite de *Origanum vulgare* 100% + Apexit plus.
- c.5 Aceite de *Origanum vulgare* 75% + Apexit plus.
- c.6 Aceite de *Origanum vulgare* 50% + Apexit plus.

3.4 Población y muestra

3.4.1 Población

Cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

3.4.2 Muestra

El tamaño de la muestra para el presente trabajo está conformado por 54 placas Petri inoculadas con cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, divididos en tres grupos, se consideró un nivel de confianza del 95% para estimar el tamaño de la muestra. En las 54 placas Petri se usó como control positivo a la Ampicilina 10µg, asimismo, estuvieron divididas de la siguiente manera:

-18 placas Petri inoculadas con las cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 para aceite esencial de *Origanum vulgare* al 100%, cemento Endoseal, cemento Apexit Plus, la unión del cemento Endoseal y el aceite esencial de *Origanum vulgare* al 100%, y la unión del cemento Apexit Plus y el aceite esencial de *Origanum vulgare* al 100%.

-18 placas Petri inoculadas con las cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 para aceite esencial de *Origanum vulgare* al 75%, cemento Endoseal, cemento Apexit Plus, la unión del cemento Endoseal y el aceite esencial de *Origanum vulgare* al 75%, y la unión del cemento Apexit Plus y el aceite esencial de *Origanum vulgare* al 75%.

-18 placas Petri inoculadas con las cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 para aceite esencial de *Origanum vulgare* al 50%, cemento Endoseal, cemento Apexit Plus, la unión

del cemento Endoseal y el aceite esencial de *Origanum vulgare* al 50%, y la unión del cemento Apexit Plus y el aceite esencial de *Origanum vulgare* al 50%.

3.4.3 Criterios de selección

3.4.3.1 Criterios de inclusión

- Placas Petri con cepas activadas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.
- Aceite esencial de *Origanum vulgare* al 100%.
- Dilución del Aceite esencial de *Origanum vulgare* al 50% y 75% estériles.

3.4.3.2 Criterios de exclusión

- Placas Petri con cepas no activadas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.
- Placas Petri con cepas activadas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 que hayan sufrido contaminaciones y/o alteraciones.
- Aceite esencial de *Origanum vulgare* en concentraciones diferentes a las propuestas en esta investigación.
- Aceite esencial de *Origanum vulgare* con compuestos minerales que puedan producir sedimentaciones.

3.5 Instrumentos

Ficha de recolección de datos (Anexo 1).

Vernier digital.

3.6 Procedimientos

3.6.1 Obtención y preparación de la muestra vegetal

Se recolectó 5kg de plantas frescas de *Origanum vulgare* “orégano” del mercado Mayorista de Lima, procedentes del departamento de Junín, se seleccionó las hojas en buen estado, las hojas seleccionadas se lavaron con agua destilada, luego se pesaron 500g de las

hojas de orégano, estas se colocaron en un recipiente y se desecaron bajo sombra a temperatura ambiente por 5 días, hasta que la muestra estuvo seca.

3.6.2 Obtención del aceite esencial

El aceite esencial de *Origanum vulgare* se obtuvo por el método de arrastre de vapor de agua, para tal efecto se colocaron 2 litros de agua en el tanque generador de vapor, a una temperatura de 110°C aproximadamente. Luego se acoplaron los tres componentes del equipo (la resistencia, el recipiente para muestra y el refrigerante). El balón con la muestra seca estuvo conectado al refrigerante, el cual desembocó en un embudo decantador tipo pera. El resultado del destilado se separó tomando en cuenta sus propiedades de inmiscibilidad y diferencia de densidades entre el agua y el aceite esencial, utilizando la pera de decantación de vidrio.

Transcurrido el tiempo de extracción, se agregó sulfato de sodio anhidro para atrapar los restos de agua, filtrándose el aceite puro. Finalmente, el aceite esencial de *Origanum vulgare* obtenido, considerado al 100%, se colocó en un frasco de vidrio color ámbar para evitar su desnaturalización, y se reservó a 4°C hasta su utilización.

Posteriormente, se prepararon las concentraciones del aceite esencial de orégano al 50% y 75%, mediante el método de dilución, utilizando Tween 80 como solvente.

Para la elaboración del aceite esencial de orégano al 50%, se colocó en un vial de vidrio 5ml del aceite esencial al 100% y 5ml de Tween 80. Para la elaboración del aceite esencial de orégano al 75%, se colocó en un vial de vidrio 7.5ml del aceite esencial al 100% y 2.5ml de Tween 80. Todos los frascos con las diferentes concentraciones de aceite esencial 100%, 75% y 50% fueron debidamente rotulados.

3.6.3 Obtención y activación de las cepas microbianas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

Las cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 fueron obtenida por medio de un distribuidor de cepas microbianas en Lima (GenLab), y fueron reactivadas en el Laboratorio de Microbiología de Biolab & Inmunomed.

Para la reactivación, las cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 fueron cultivadas en placas Petri en Agar sangre de carnero e incubadas por 24 horas a 37°C.

3.6.4 Preparación del medio de cultivo Agar Mueller Hinton

Se preparó el Agar Mueller Hinton en un frasco de vidrio según las indicaciones del fabricante, 34gramos en 1 litro de agua destilada, luego se autoclavó el agar a 121°C durante 15 minutos, inmediatamente luego del autoclavado se dejó enfriar el agar entre 45-50°C, en baño de agua. Luego de temperarse el Agar, se vertió en placas Petri, en superficie horizontal 4mm de profundidad, correspondiente a 60-70ml de volumen para placas de 150mm de diámetro. Luego del plaqueado del Agar, las placas se dejan solidificar a temperatura ambiente. Cabe mencionar, que se realizó un control de esterilidad, para ello el 5% de las placas Petri utilizadas se incubaron a 37°C.

3.6.5 Preparación del inóculo

Luego de la activación de las cepas, se tomó una cierta de cantidad de colonias de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, estas se diluyeron en un tubo de ensayo conteniendo 10ml de suero fisiológico estéril (cloruro de sodio 0.9%), hasta obtener una turbidez equivalente al tubo 0.5 de la escala de McFarland, lo cual corresponde aproximadamente a 1×10^8 microorganismos viables por ml.

3.6.6 Inoculación de las placas

El inóculo bacteriano preparado se trasladó a las 54 placas Petri con Agar Mueller Hinton mediante el método de Kirby-Bauer (método de difusión en agar), se sembró las placas de borde a borde, asegurando una correcta distribución del *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en cada una de las 54 placas Petri.

Luego del proceso de siembra de las bacterias se procedió a rotular y enumerar las placas Petri, fueron 3 grupos conformados por 18 placas cada uno.

3.6.7 Colocación del aceite esencial de orégano, de los cementos endodónticos, de las mezclas de aceite con cemento, y del control positivo en las placas Petri

Se procedió a preparar los cementos endodónticos, y las mezclas de los cementos endodónticos con las diferentes concentraciones de aceite esencial de orégano, esto se realizó de la siguiente manera:

El cemento Endoseal, cemento a base de óxido de zinc y eugenol, fue preparado de acuerdo con las indicaciones del fabricante, por cada cucharada de polvo se agregó cinco gotas de líquido, estas proporciones fueron mezcladas en una platina de vidrio estéril, para luego embeber con ello los discos de papel filtro (6mm de diámetro) que fue colocado en cada placa Petri según correspondía.

El cemento Apexit Plus, cemento a base de hidróxido de calcio, ya que viene en presentación de jeringa dual, fue dispensado de manera directa a una platina de vidrio, para luego embeber con ello los discos de papel filtro (6mm de diámetro) que fue colocado en cada placa Petri según correspondía.

Se prepararon en platinas de vidrio esterilizadas, las siguientes mezclas:

La mezcla del cemento Endoseal y el aceite esencial de *Origanum vulgare* al 100%, fue realizado sobre una platina de vidrio estéril, por cada 2 porciones de cemento Endoseal se agregó 50 microlitros de aceite esencial de *Origanum vulgare* al 100%, para luego embeber

con ello los discos de papel filtro (6mm de diámetro) que fueron colocados en cada placa Petri según correspondía.

La mezcla del cemento Endoseal y el aceite esencial de *Origanum vulgare* al 75%, fue realizado sobre una platina de vidrio estéril, por cada 2 porciones de cemento Endoseal se agregó 50 microlitros de aceite esencial de *Origanum vulgare* al 75%, para luego embeber con ello los discos de papel filtro (6mm de diámetro) que fueron colocados en cada placa Petri según correspondía.

La mezcla del cemento Endoseal y el aceite esencial de *Origanum vulgare* al 50%, fue realizado sobre una platina de vidrio estéril, por cada 2 porciones de cemento Endoseal se agregó 50 microlitros de aceite esencial de *Origanum vulgare* al 50%, para luego embeber con ello los discos de papel filtro (6mm de diámetro) que fueron colocados en cada placa Petri según correspondía.

La mezcla del cemento Apexit Plus y el aceite esencial de *Origanum vulgare* al 100%, fue realizado sobre una platina de vidrio estéril, por cada 100 microlitros de cemento Apexit Plus se agregó 50 microlitros de aceite esencial de *Origanum vulgare* al 100%, para luego embeber con ello los discos de papel filtro (6mm de diámetro) que fueron colocados en cada placa Petri según correspondía.

La mezcla del cemento Apexit Plus y el aceite esencial de *Origanum vulgare* al 75%, fue realizado sobre una platina de vidrio estéril, por cada 100 microlitros de cemento Apexit Plus se agregó 50 microlitros de aceite esencial de *Origanum vulgare* al 75%, para luego embeber con ello los discos de papel filtro (6mm de diámetro) que fueron colocados en cada placa Petri según correspondía.

La mezcla del cemento Apexit Plus y el aceite esencial de *Origanum vulgare* al 50%, fue realizado sobre una platina de vidrio estéril, por cada 100 microlitros de cemento Apexit Plus se agregó 50 microlitros de aceite esencial de *Origanum vulgare* al 50%, para luego

embeber con ello los discos de papel filtro (6mm de diámetro) que fueron colocados en cada placa Petri según correspondía.

Asimismo, se colocó gotas de aceite esencial de *Origanum vulgare* al 100%, para luego embeber con ello los discos de papel filtro (6mm de diámetro) que fueron colocados en cada placa Petri según correspondía, el mismo procedimiento fue realizado con las concentraciones de 50% y 75% de aceite esencial de *Origanum vulgare*.

Los discos de papel filtro embebidos con las diferentes sustancias se colocaron sobre la siembra presionándolos suavemente, de igual manera, el control positivo (discos de Ampicilina 10µg) fue colocado en la siembra directamente en cada placa Petri.

3.6.8 Incubación de las placas Petri

Las 54 placas Petri fueron selladas con Parafilm y luego llevadas a la incubadora a una temperatura de 37°C durante 24 horas.

3.6.9 Evaluación del efecto inhibitorio mediante halos de inhibición

Una vez finalizado el periodo de incubación de las 54 placas Petri, se evaluó los resultados teniendo en consideración las medidas de los halos de inhibición, los diámetros de la zona de inhibición fueron medidos utilizando un vernier digital y se anotaron en la ficha de recolección de datos.

3.7 Análisis de datos

Los datos obtenidos se colocaron en la ficha de recolección de datos para luego ser procesados y analizados, se realizó el análisis descriptivo de los datos, presentando medidas de resumen (promedio, mediana, desviación estándar, mínimo y máximo) para cada grupo de trabajo y se elaboró tablas y gráficas de barra. El nivel de significancia para las pruebas estadísticas se fijó en ($p < 0.05$), el análisis se realizó utilizando el programa SPSS versión 25.0 y el Microsoft Excel. Para la presente investigación se utilizó la prueba estadística de ANOVA (Análisis de varianza), de Kruskal Wallis, de Bonferroni y de Dunn.

3.8 Consideraciones éticas

Para la presente investigación se solicitó la autorización en la Oficina de Grados y Títulos de la Facultad de Odontología previo a su ejecución. El investigador no tiene ningún conflicto de interés con los productos utilizados en el estudio.

IV. Resultados

Este estudio fue realizado sobre cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, en los cuales se observó el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare*, el cemento Endoseal y el cemento Apexit Plus. Los resultados se muestran en tablas y gráficos.

Los valores descriptivos para el halo de inhibición del *Enterococcus faecalis*, en el grupo orégano al 100% usado de forma única fue en promedio mayor ($26.87 \pm 5.9\text{mm}$) a todos los grupos de cementos a excepción del grupo control, seguido de los cementos con coadyuvante: Apexit Plus+Orégano100% y Endoseal+Orégano 100%. Sin embargo, el uso de cementos de forma individual presentó menor efecto la cepa bacteriana. Ver tabla y gráfico 1

Tabla 1

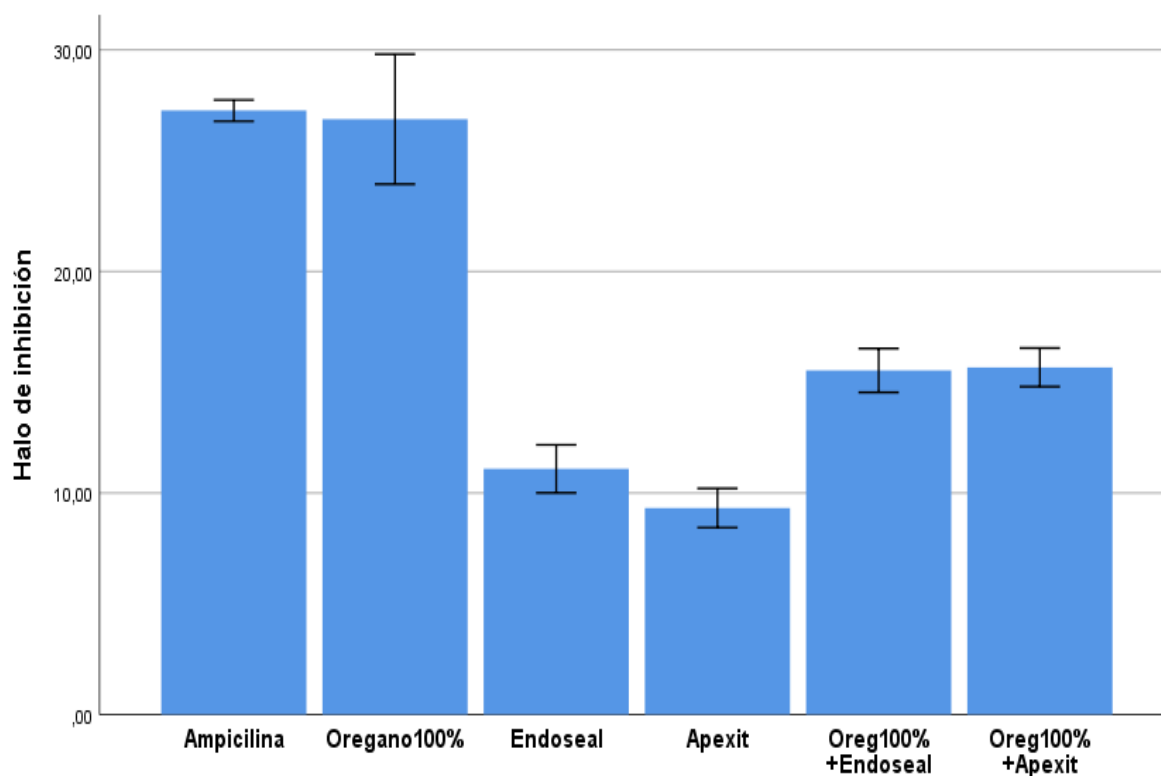
Resumen descriptivo y comparación del Efecto Antibacteriano (halo de inhibición en mm) del aceite esencial de Origanum vulgare al 100%, frente al Enterococcus faecalis.

Grupos	Promedio	DE	Min	Max	IC95%		p- valor
					Li	Ls	
Orégano 100%	26.87	5.90	18.56	35.50	23.94	29.81	<0.01*
Endoseal+Orégano100%	15.53	2.00	11.04	18.32	14.54	16.52	
Apexit Plus+Orégano100%	15.67	1.75	12.32	18.03	14.80	16.54	
Endoseal	11.09	2.18	6.51	16.62	10.01	12.17	
Apexit Plus	9.32	1.77	6.89	12.24	8.44	10.20	
Ampicilina	27.26	0.97	24.98	28.55	26.78	27.74	

Nota. *Diferencias significativas entre al menos dos grupos; ^aANOVA de un factor; DE: Desviación estándar; IC95% Intervalo de confianza de la media.

Gráfico 1

Distribución de los valores del halo inhibitorio para los grupos de estudio



Nota. Gráficos elaborados en base a la media y el intervalo de confianza al 95%

El grupo que usó orégano al 75% de forma única fue más efectivo con promedio de inhibición de 19.75 ± 5.9 mm que los otros grupos tanto cementos como usando como coadyuvante. Siendo los cementos usados de forma individual también los que presentaron menor halo de inhibición. Ver tabla y gráfico 2

Tabla 2

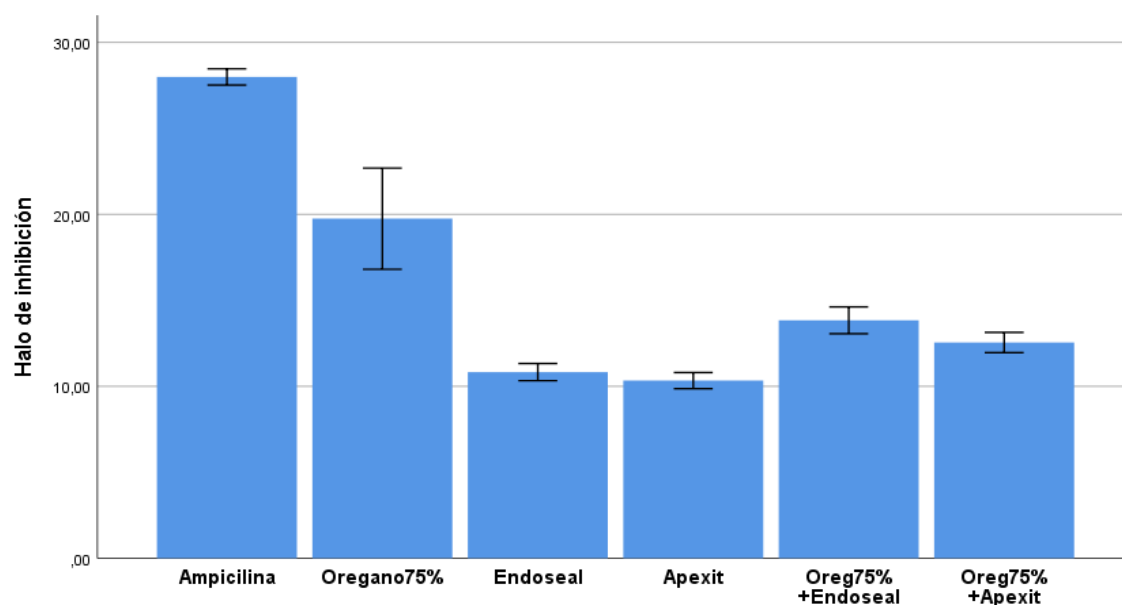
Resumen descriptivo y comparación del Efecto Antibacteriano (halo de inhibición en mm) del aceite esencial de Origanum vulgare al 75%, frente al Enterococcus faecalis.

Grupos	Promedio	DE	Min	Max	IC95%		p- valor
					Li	Ls	
Orégano 75%	19.75	5.91	10.53	32.33	16.81	22.69	
Endoseal+Orégano75%	13.84	1.57	11.19	16.79	13.06	14.62	
Apexit							
Plus+Orégano75%	12.54	1.14	10.6	14.7	11.96	13.13	<0.01*
Endoseal	10.83	1.00	9	13	10.33	11.33	
Apexit Plus	10.33	0.94	8.11	11.76	9.86	10.80	
Ampicilina	27.99	0.94	26.43	29.54	27.52	28.46	

Nota. *Diferencias significativas entre al menos dos grupos; ^aANOVA de un factor; DE: Desviación estándar; IC95% Intervalo de confianza de la media.

Gráfico 2

Distribución de los valores del halo inhibitorio para los grupos de estudio



Nota. Gráficos elaborados en base a la media y el intervalo de confianza al 95%.

La respuesta antibacteriana del orégano al 50% fue similar con los grupos de cementos de forma individual, así como de los usado con coadyuvante de orégano. Los valores medios de inhibición fueron para el grupo orégano 50% de 11.99 ± 2.16 mm, como coadyuvante del Endoseal de 11.83 ± 0.78 mm y del Apexit Plus con 11.98 ± 1.59 mm. Ver tabla y gráfico 3

Tabla 3

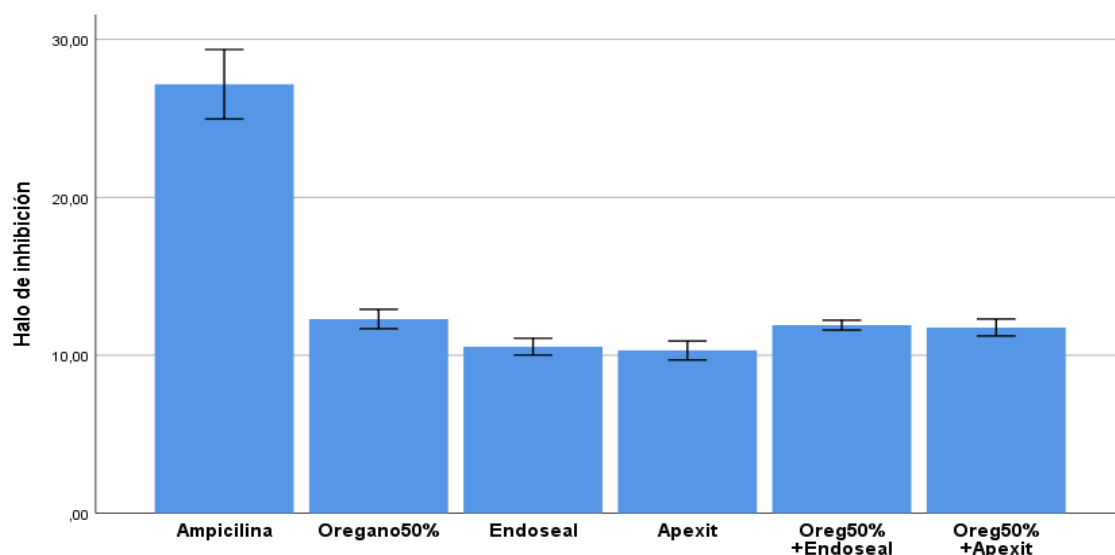
Resumen descriptivo y comparación del Efecto Antibacteriano (halo de inhibición en mm) del aceite esencial de Origanum vulgare al 50% comparado con otros grupos de estudio, frente al Enterococcus faecalis.

Grupos	Mediana	RIQ	Min	Max	IC95%		p-valor ^a
					Li	Ls	
Orégano 50%	11.99	2.16	10.75	14.66	11.68	12.90	
Orégano50%+Endoseal	11.83	0.78	10.97	13.1	11.59	12.22	
Orégano50%+Apexit Plus	11.98	1.59	9.1	13.5	11.22	12.29	<0.01*
Endoseal	10.91	1.41	8.3	12.11	10.01	11.07	
Apexit Plus	10.24	1.92	8.17	12.3	9.69	10.90	
Ampicilina	27.39	8.71	21.3	33.18	24.96	29.36	

Nota. *Diferencias significativas entre al menos dos grupos; ^aPrueba Kruskal Wallis; RIQ: Rango intercuartilar (Q3-Q1).

Gráfico 3

Distribución de los valores del halo inhibitorio para los grupos de Orégano al 50% y otros grupos de estudio.



Nota. Gráficos elaborados en base a la media y el intervalo de confianza al 95%.

Al analizar los valores obtenidos de todos los grupos de orégano individual y como coadyuvante, el de concentración al 100% fue el que presentó mayor inhibición de halo con 26.87 ± 5.9 mm, seguido del 75% con 19.75 ± 5.91 mm, orégano al 100%+Apexit Plus con 15.67 ± 1.75 mm y más Endoseal con 15.53 ± 2 mm. Ver tabla y gráfico 4

Tabla 4

Resumen descriptivo y comparación del Efecto Antibacteriano (halo de inhibición en mm) del aceite esencial de Origanum vulgare al 100%, 75% y 50% como coadyuvantes de los cementos Endoseal y Apexit Plus, frente al Enterococcus faecalis.

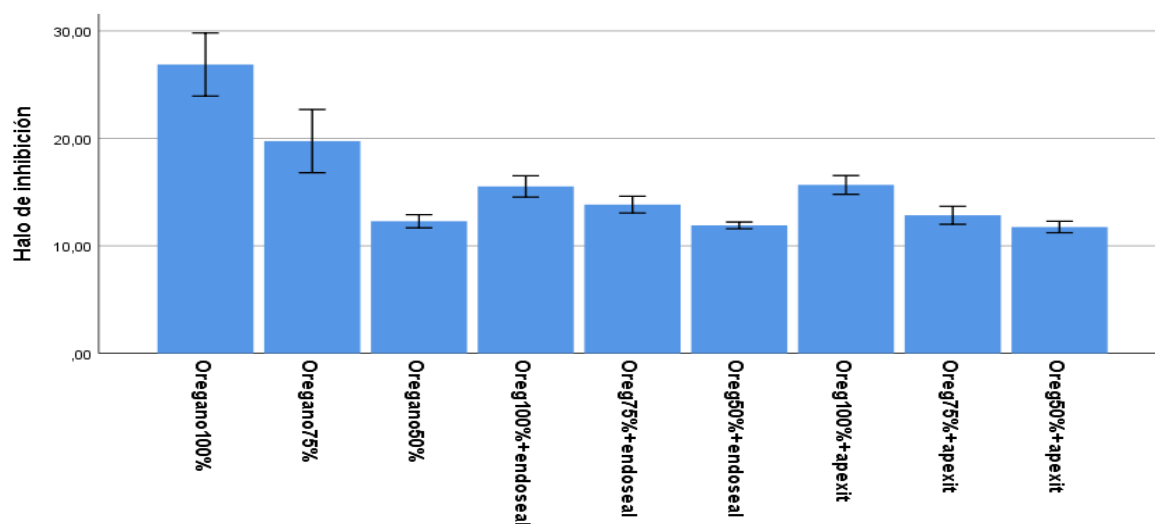
Grupos	Promedio	DE	Min	Max	IC95%		p-valor ^a
					Li	Ls	
Orégano 100%	26.87	5.90	18.56	35.50	23.94	29.81	<0.01*

Orégano 75%	19.75	5.91	10.53	32.33	16.81	22.69
Orégano 50%	12.29	1.23	10.75	14.66	11.68	12.90
Orégano100%+Endoseal	15.53	2.00	11.04	18.32	14.54	16.52
Orégano75%+Endoseal	13.84	1.57	11.19	16.79	13.06	14.62
Orégano50%+Endoseal	11.91	0.63	10.97	13.1	11.59	12.22
Orégano100%+Apexit Plus	15.67	1.75	12.32	18.03	14.80	16.54
Orégano75%+Apexit Plus	12.54	1.14	10.6	14.7	11.96	13.13
Orégano50%+Apexit Plus	11.76	1.08	9.1	13.5	11.22	12.29

Nota. *Diferencias significativas entre al menos dos grupos; ^aANOVA de un factor; DE: Desviación estándar; IC95% Intervalo de confianza de la media.

Gráfico 4

Distribución de los valores del halo inhibitorio para los grupos de Orégano como coadyuvante de los cementos Endoseal y Apexit Plus.



Nota. Gráficos elaborados en base a la media y el intervalo de confianza al 95%.

Estas diferencias halladas fueron significativas donde el orégano al 100% presentó halo de inhibición significativamente mayor que todos los demás grupos ($p<0.05$). Sin embargo, el orégano al 100% como coadyuvante del cemento Endoseal y de Apexit Plus fue mayor significativamente al cemento Endoseal y Apexit Plus ($p<0.05$). Ver tabla 5

Tabla 5

Comparaciones múltiples de las medias del Efecto Antibacteriano entre aceite esencial de Origanum vulgare al 100% como coadyuvantes con cementos Endoseal y Apexit Plus frente al Enterococcus faecalis.

	Ampicilina	Orégano 100%	Endoseal	Apexit Plus	Oreg100%+ Endoseal
Orégano 100%	0.39				
Endoseal	-16.17*	-15.78*			
Apexit Plus	-17.94*	-17.55*	-1.76		
Oreg100%+ Endoseal	-11.73*	-11.34*	4.44*	6.21*	
Oreg100%+ Apexit Plus	-11.59*	-11.2*	4.58*	6.35*	0.14

Nota. El contraste de hipótesis de diferencia entre medias de los grupos está basado en la prueba de Bonferroni. Los valores son las diferencias de medias y los asteriscos las diferencias estadísticamente significativas a nivel de 0.05.

Con respecto al grupo con orégano al 75%, este fue significativamente mayor que los cementos usados de forma individual, así como, de los cementos Endoseal y Apexit Plus que usaron como coadyuvante al orégano 75% ($p<0.05$). El grupo orégano 75% +Endoseal

presentaron halos de inhibición estadísticamente mayores que los grupos de cementos usado de forma individual ($p < 0.05$). Ver tabla 6

Tabla 6

Comparaciones múltiples de las medias del Efecto Antibacteriano entre aceite esencial de Origanum vulgare al 75% como coadyuvantes con cementos Endoseal y Apexit Plus frente al Enterococcus faecalis.

	Ampicilina	Orégano 75%	Endoseal	Apexit Plus	Orégano75%+ Endoseal
Orégano 75%	-8.24*				
Endoseal	-17.16*	-8.92*			
Apexit Plus	-17.66*	-9.41*	-0.49		
Orégano75%+					
Endoseal	-14.15*	-5.9*	3.01*	3.51*	
Orégano75%+					
Apexit Plus	-15.44*	-7.2*	1.72	2.21	-1.29

Nota. El contraste de hipótesis de diferencia entre medias de los grupos está basado en la prueba de Bonferroni. Los valores son las diferencias de medias y los asteriscos las diferencias estadísticamente significativas a nivel de 0.05.

El grupo de orégano al 50% de forma individual solo fue significativamente mayor a los cementos Apexit Plus y Endoseal usado de forma individual ($p < 0.05$). En el mismo sentido, los cementos usando como coadyuvante al orégano 50% presentaron halos de inhibición significativamente mayores que los cementos usados de forma individual. Ver tabla 7

Tabla 7

Comparaciones múltiples de las medias del Efecto Antibacteriano entre aceite esencial de Origanum vulgare al 50% como coadyuvantes con cementos Endoseal y Apexit Plus frente al Enterococcus faecalis.

	Ampicilina	Orégano 50%	Endoseal	Apexit Plus	Orégano50%+ Endoseal
Orégano 50%	3.67*				
Endoseal	6.79*	3.12*			
Apexit Plus	7.11*	3.45*	0.32		
Orégano50%+					
Endoseal	3.92*	0.25	-2.88*	-3.19*	
Orégano50%+					
Apexit Plus	4.37*	0.7	-2.42*	-2.75*	0.45

Nota. El contraste de hipótesis de diferencia entre medias de los grupos está basado en la prueba de Dunn. Los valores son las diferencias de medias y los asteriscos las diferencias estadísticamente significativas a nivel de 0.05.

Las comparaciones múltiples entre todos los grupos que usan orégano muestran que el orégano al 100% fue significativamente mayor a las demás concentraciones ya sea de forma individual como usados como coadyuvantes de los cementos ($p < 0.05$). El grupo de orégano al 75% fue mayor a todos los grupos con excepción del de concentración 100% ($p < 0.05$), mientras que el grupo de orégano al 50% solo fue mayor al grupo de 75%+Apexit Plus. ($p < 0.05$). Ver tabla 8

Tabla 8

Comparaciones múltiples de las medias del Efecto Antibacteriano entre aceite esencial de Origanum vulgare al 100%, 75% y 50% como coadyuvantes con cementos Endoseal y Apexit Plus frente al Enterococcus faecalis.

	Orég. 100%	Orég. 75%	Orég. 50%	Orég. 100% +E	Orég. 100% +A	Orég. 75%+ E	Orég. 75%+ A	Orég. 50%+ E
Orégano 75%	-7.13*							
Orégano 50%	-14.58*	-7.45*						
Orég.100%+E	-11.34*	-4.22*	3.24					
Orég.100%+A	-13.03*	-5.91*	1.55	-1.69				
Orég.75%+E	-14.97*	-7.84*	-0.39	-3.63*	-1.93			
Orég.75%+A	-11.2*	-4.08*	3.38*	0.14	1.83	3.76*		
Orég.50%+E	-14.33*	-7.2*	0.25	-2.99	-1.29	0.64	-3.13	
Orég.50%+A	-15.12*	-7.99*	-0.54	-3.78*	-2.08	-0.15	-3.91*	-0.79

Nota. E: Endoseal; A: Apexit Plus. El contraste de hipótesis de diferencia entre medias de los grupos está basado en la prueba de Bonferroni. Los valores son las diferencias de medias y los asteriscos las diferencias estadísticamente significativas a nivel de 0.05.

V. Discusión de resultados

El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* y el de dos cementos endodónticos frente al *Enterococcus faecalis*, así como también, determinar si al mezclar las diversas concentraciones de aceite de orégano con cada cemento endodóntico, produciría un incremento en el efecto antibacteriano; uno de los cementos endodónticos fue a base de óxido de zinc y eugenol (Endoseal), y el otro cemento fue a base de hidróxido de calcio (Apexit Plus), asimismo, se realizaron mezclas de las concentraciones de aceite esencial de *Origanum vulgare* con los cementos endodónticos. La siembra de la cepa de *Enterococcus faecalis* se realizó en Agar Mueller Hinton, se embebieron discos de papel con el aceite esencial de *Origanum vulgare* (100, 75 y 50 %), los cementos endodónticos, y las mezclas entre aceite y cementos.

Ahora bien, en el estudio realizado por Chambilla (2021) obtuvo que, el cemento a base de óxido de zinc y eugenol mostró un halo frente al *Enterococcus faecalis* de 8,468mm, y el cemento a base de hidróxido mostró un halo frente al *Enterococcus faecalis* de 6,165mm, en la presente investigación se obtuvo en el primer grupo, un promedio de 11.09mm para el cemento a base óxido de zinc y eugenol (Endoseal) y 9.32mm para el cemento a base de hidróxido de calcio (Apexit Plus), asimismo, al añadir aceite esencial de orégano al 100% a dicho cementos, el halo inhibitorio aumentó, arrojando un promedio para la mezcla entre el Endoseal+Aceite de orégano100% un halo de 15.63mm y para Apexit Plus+Aceite de orégano100% un halo de 15.67mm. En la investigación realizada por Gonzales (2020), obtuvo como resultado que frente al *E. faecalis*, el cemento Sealer 26 arrojó 14.3mm, y el cemento Endoseal 12.4mm, estos resultados discrepan con el presente estudio, ya que en la presente investigación los promedios de halos de inhibición obtenidos por los cementos endodónticos fueron menores.

Moromi et al. (2018) obtuvieron halos de $9,5 \pm 1,29$ mm al usar el aceite de orégano a la concentración del 100 % frente al *Enterococcus faecalis*, estos resultados discrepan con el presente estudio ya que en la presente investigación el promedio de halos de inhibición obtenidos por el aceite de orégano al 100% fue de 26.87 ± 5.9 mm. Malpartida (2017), en su estudio realizado frente a cepas de *Enterococcus faecalis*, obtuvo como resultado, que el efecto inhibidor del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 100% fue de $7,56 \text{ mm.} \pm 1,5 \text{ mm.}$, estos resultados discrepan con el presente estudio ya que en la presente investigación el promedio de halos de inhibición obtenidos por el aceite de orégano al 100% fue de 26.87 ± 5.9 mm. Malca (2016) obtuvo como resultado que en el que el grupo sólo de aceite esencial de *Origanum vulgare* a la concentración 100% se mostró un promedio de halo de 23.0mm, y a la concentración del 75% = 12.6mm, estos resultados son similares con el presente estudio ya que en la presente investigación el promedio de halos de inhibición obtenidos por el aceite de orégano al 100% fue de 26.87 ± 5.9 mm, asimismo, a la concentración de 75% se obtuvo 19.75 ± 5.9 mm de halo de inhibición. Tapia (2016) obtuvo los siguientes halos de inhibición sobre la cepa ATCC 29212 de *Enterococcus faecalis*: AH PLUS = 8.65mm, ROEKO SEAL = 6.00mm, APEXIT PLUS = 6.00mm, en la presente investigación se obtuvo en el primer grupo, un promedio de 9.32mm para el cemento a base de hidróxido de calcio (Apexit Plus). Gürel et al. (2016), obtuvieron como resultado que los promedios de halos de inhibición frente a *Enterococcus faecalis* fueron los siguientes: Smartpaste Bio = 11.75 ± 0.42 mm, MTA Fillapex = 6.00 ± 0.36 mm, AH Plus = 7.00 ± 0.44 mm; asimismo, Habeeb (2014), obtuvo como resultado que, sobre el *Enterococcus faecalis*, el cemento Endofill mostró la mayor actividad antibacterial (4.4mm), GuttaFlow mostro efecto moderado (2.4mm), Apexit mostró un mal efecto (0.6mm), mientras que AH Plus no mostró ningún efecto, los resultados de ambas investigaciones discrepan con el presente estudio ya que, en la presente investigación el promedio de halos de inhibición obtenidos por los cementos endodónticos fueron mayores

(11.09mm para el cemento a base óxido de zinc y eugenol – Endoseal, y 9.32mm para el cemento a base de hidróxido de calcio -Apexit Plus).

Por todo lo antes expuesto, se acepta la hipótesis de la investigación donde se afirma que el aceite esencial de *Origanum vulgare* incrementa el efecto antibacteriano del cemento Endoseal y del cemento Apexit Plus frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

La importancia del presente estudio radica en que se logró determinar que el aceite esencial de *Origanum vulgare* a concentraciones de 100%, 75% y 50% presenta un efecto antibacteriano frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, y que, al usarlo como coadyuvante en cementos endodónticos a base de óxido de zinc-eugenol y a base de hidróxido de calcio, estos incrementan su acción, siendo de gran ayuda en el campo de la Endodoncia, ya que, siempre esta latente la posibilidad de presencia de agentes infecciosos al culminar un tratamiento de conducto.

VI. Conclusiones

- Las tres concentraciones de aceite esencial de *Origanum vulgare* utilizadas en el presente estudio demostraron actividad antibacteriana, siendo la concentración al 100% la que presentó los halos de inhibición de mayor diámetro en comparación con las concentraciones al 75% y 50%.
- Al comparar el diámetro del halo de inhibición del aceite esencial de *Origanum vulgare* al 100% con los halos producidos por los cementos Endoseal y Apexit Plus, se hallaron diferencias estadísticas altamente significativas, siendo el aceite esencial de *Origanum vulgare* al 100% el que presentó los halos de inhibición de mayor diámetro.
- Al utilizar el aceite esencial de *Origanum vulgare* como coadyuvante a los cementos usados, se obtuvo que el de concentración al 100% fue el que produjo mayor aumento de diámetro en los halos de inhibición.

VII. Recomendaciones

- Utilizar cepas diferentes para evaluar la acción antibacteriana del aceite esencial de *Origanum vulgare*.
- Realizar estudios con diversas cantidades de aceite esencial de *Origanum vulgare* con los mismos tipos de cementos utilizados en el presente estudio.
- Realizar estudios con otros tipos cementos endodónticos, para conocer la realidad de la resistencia antibacteriana del aceite esencial de *Origanum vulgare* como coadyuvante.
- Realizar estudios sobre cepas recolectadas clínicamente, para conocer la realidad de la resistencia antibacteriana del aceite esencial de *Origanum vulgare*.
- Realizar estudios experimentales in vitro en animales a fin de determinar las dosis terapéuticas y su toxicidad.
- Realizar estudios con otras presentaciones farmacéuticas en base al aceite esencial del *Origanum vulgare* (como geles, extractos, etc.) como otra opción para los pacientes que presenten enfermedades bucodentales.

VIII. Referencias

- Arcila, C., Loarca, G., Lecona, S., y González, E. (2004). El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 54(1),100-111.
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222004000100015
- Baldwin, W., y Castro, R. (2007). Capacidad antibacteriana de diferentes selladores endodónticos frente al *Enterococcus faecalis*. Estudio in Vitro. *Revista Kiru*, 4(1), 17-19. <https://www.aulavirtualusmp.pe/ojs/index.php/Rev-Kiru0/article/view/306/272>
- Barrow, G., y Feltham, R. (1993). *Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria*. 3ra. Edición. Cambridge University Press.
- Bodrumlu, E., y Semiz, M. (2006). Antibacterial activity of a new endodontic sealer against *Enterococcus faecalis*. *Journal (Canadian Dental Association)*, 72(7), 637. <http://cda-adc.ca/jcda/vol-72/issue-7/637.pdf>
- Boskovic, M., Zdravkovic, N., Ivanovic, J., Janjic, J., Djordjevic, J., Starcevic, M., y Baltic, M. (2015). Antimicrobial activity of Thyme (*Tymus vulgaris*) and Oregano (*Origanum vulgare*) essential oils against some food-borne microorganisms. *Procedia Food Science*,5,18-21.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211601X15000954>
- Brito, T., Olano, T., Teixeira, L., Ramos, C., y Nishiyama, C. (2016). Actividad antimicrobiana y biocompatibilidad de los cementos endodónticos a base de hidróxido de calcio. *Revista ADM*, 73(2), 60-64. <https://biblat.unam.mx/es/revista/revista-adm/articulo/actividad-antimicrobiana-y-biocompatibilidad-de-los-cementos-endodonticos-a-base-de-hidroxido-de-calcio>
- Canalda, C., y Brau, E. (2006). *Endodoncia: Técnicas clínicas y Bases científicas*. 2da. Edición. Elsevier.

- Canalda, C., y Brau, E. (2014). *Endodoncia Técnicas Clínicas y Bases Científicas*. 3ra. Edición. Elsevier.
- Chambilla, K. (2021). *Efecto antimicrobiano de tres cementos selladores (a base de resina, hidróxido de calcio, óxido de zinc y eugenol) usados en el área de endodoncia frente a Enterococcus faecalis ATCC 29212, Streptococcus mutans ATCC 25175 y Candida Albicans ATCC 10231. Estudio in vitro. Tacna, 2020* [Tesis de licenciatura, Universidad Privada de Tacna].
<https://repositorio.upt.edu.pe/handle/20.500.12969/1909>
- Chávez, L., Díaz, F., Escalante, G., y Estrada, E. (2008). Efecto sinérgico del aceite esencial de *Origanum vulgare* a la Gentamicina en cultivos de *Escherichia coli*. *Revista Ciencia e Investigación Médico Estudiantil Latinoamericana*, 13(2), 45-48.
http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/cimel/v13_n2/pdf/a03v13n2.pdf
- Cohen, S., Hargreaves, K., y Berman, L. (2011). *Cohen Vías de la Pulpa*. 10ma Edición. Elsevier.
- Cona, E. (2002). Condiciones para un buen estudio de susceptibilidad mediante test de difusión en agar. *Rev Chil Infect*, 19(2). 77-81. <https://www.scielo.cl/pdf/rci/v19s2/art01.pdf>
- Ferrer, C., Baca, P., Arias, M., Bailón, E. y Ruiz, M. (2014). Composición para el sellado endodóntico con efecto antibacteriano. (España, no. 2420231 B1). Oficina Española de Patentes y Marcas. Repositorio Institucional de la Universidad de Granada.
<https://digibug.ugr.es/handle/10481/32902>
- García, H., y Arashiro, C. (2008). Efecto antibacteriano de tres cementos endodónticos usados en obturación retrógrada sobre tres especies bacterianas. Estudio in Vitro. *Revista Kiru*, 5(2), 105-110. <https://repositorio.usmp.edu.pe/handle/20.500.12727/1739>
- Gonzales, H. (2020). *Evaluación de la capacidad antibacteriana de dos cementos endodónticos a base de hidróxido de calcio y óxido de zinc frente a cepas de*

- Enterococcus faecalis*. Estudio in vitro [Tesis de licenciatura, Universidad Privada Norbert Wiener]. Repositorio Digital UWIENER.
<http://repositorio.uwiener.edu.pe/xmlui/handle/123456789/4047>
- Grossman, L., Oliet, S., y Del Rio, C. (1988). *Endodontic practice*. Lea y Febiger.
- Gürel, M., Demiryurek, E., Ozyurek, T. y Gulhan, T. (2016). Antimicrobial activities of different bioceramic root canal sealers on various bacterial species. *International Journal of Applied Dental Sciences*, 2(3),19-22.
<http://www.oraljournal.com/pdf/2016/vol2issue3/PartA/2-2-32.pdf>
- Guijarro, S. (2017). *Inhibición del Enterococcus faecalis: Análisis in vitro del efecto antimicrobiano del hipoclorito de sodio a diferentes temperaturas, sólo y combinado con agitación* [Tesis de licenciatura, Universidad Central del Ecuador].
<http://200.12.169.19:8080/handle/25000/10507>
- Habeeb, M. (2014). Analysis of antimicrobial activity of root canal sealers against endodontic pathogens using agar diffusion test (In vitro study). *J Bagh College Dentistry*, 26(3), 27-34. http://jbcd.uobaghdad.edu.iq/index.php/jbcd/article/view/512/pdf_233
- Heredia, D., Abad, D., y Villavicencio, E. (2017). Eficacia antibacteriana de tres selladores endodónticos frente al *Enterococcus faecalis*. *Revista Estomatológica Herediana*, 27(3), 132-140. <https://dx.doi.org/10.20453/reh.v27i3.3197>
- Ingle, J. (2008). *Endodoncia*. McGraw-Hill.
- Instituto Nacional de Salud. (2002). *Manual de Procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el Método de Disco Difusión*.
<https://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad%202.pdf>
- Ivoclar (2022). *Apexit Plus Sellador de canales radiculares*.
https://www.ivoclar.com/es_latam/products/endodontics---core-build-up/apexit-plus

- Kapralos, V., Koutroulis, A., Orstavik, D., Titterud, P. y Valen, R. (2017). Antibacterial Activity of Endodontic Sealers against Planktonic Bacteria and Bacteria in Biofilms. *Journal of Endodontics*, 24(1), 149-154. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239917309755>
- Klauer, D. (2009). *Manual técnico de cultivo ecológico de orégano (Origanum sp. L)*. El taller. <https://es.scribd.com/document/381258587/Manual-Cultivo-Ecologico-Oregano>.
- Leonardo, M. (2005). *Endodoncia. Tratamiento de canales radiculares: principios técnicos y biológicos*. Artes Médicas Latinoamérica.
- Liébana, J. (2002). *Microbiología Oral*. 2da. Edición. McGraw-Hill Interamericana.
- Malca, M. (2016). *Efecto sinérgico in vitro del Origanum vulgare y la penicilina sobre la resistencia del Enterococcus faecalis ATCC 29212* [Tesis de licenciatura, Universidad Privada Antenor Orrego]. <https://repositorio.upao.edu.pe/handle/20.500.12759/2742>
- Malpartida, F. (2017). *Efecto inhibidor de las concentraciones mínimas del aceite esencial de muña y orégano en comparación con sustancias antimicrobianas usadas en la terapia pulpar frente a cepas de Enterococcus faecalis. Estudio in vitro. Lima 2014* [Tesis de Doctorado, Universidad Privada Norbert Wiener]. Repositorio Digital UWIENER. <http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/3079>
- Moromi, H., Ramos, D., Villavicencio, J., Martínez, E., Mendoza, A., Chavez, E., Ortiz, L., y Quispe, A. (2018). Estudio in vitro del Efecto Antibacteriano de la Oleorresina de Copaifera reticulata y el Aceite Esencial de Origanum majoricum Frente a Streptococcus mutans y Enterococcus Faecalis Bacterias de Importancia en Patologías Orales. *International journal of odontostomatology*, 12(4), 355-361. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-381X2018000400355>
- Mühlhauser, M. (2014) Laboratorio de Microbiología: Conocimientos básicos para un Clínico. *Rev. Med. Clin. Condes*, 25(3), 569-579.

https://www.clinicalascondes.cl/Dev_CLC/media/Imagenes/PDF%20revista%20m%20A9dica/2014/3%20abril/19-Dra.Mulhauser.pdf

Murray, B. (1990). The life and times of the enterococcus. *Clinical Microbiology Reviews*, 3(1), 46-65. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC358140/pdf/cmr00046-0058.pdf>

Murray, P., Rosenthal, K., y Pfaller, M. (2006). *Microbiología médica*. 5ta. Edición. Elsevier.

Negroni, M. (2009). *Microbiología Estomatológica Fundamentos y Guía Práctica*. 2da. Edición. Médica Panamericana.

Nirupama, D., Nainan, M., Ramaswamy, R., Muralidharan, S., Lingareddy, H., Sharma, R. y Gupta, S. (2014). In Vitro Evaluation of the Antimicrobial Efficacy of Four Endodontic Biomaterials against *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, and *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Biomaterials*. 2014. <https://downloads.hindawi.com/journals/ijbm/2014/383756.pdf>

Ortega, A. (2018). *Determinación del efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de tomillo(Thymus vulgaris) y orégano(Origanum vulgare) frente a la bacteria Staphylococcus aureus ATCC:12600* [Tesis de licenciatura, Universidad Politécnica Salesiana]. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16043/1/UPS-CT007779.pdf>

Paredes, F. y Roca, J. (2004). Acción de los antibióticos. Perspectiva de la medicación antimicrobiana. *Offarm - Elsevier*, 23(3), 116-124. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13059414>

Picazo, J. (2000). *Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>

- Piotto, D., Battisti, J., Teixeira, D., Tomazinho, P., Baratto, F., Haragushiku, G. y Sens, F. (2009). Avaliação in vitro da ação antimicrobiana de alguns cimentos endodônticos. *Revista Sul-Brasileira de Odontologia*, 6(4), 367-373.
<https://www.redalyc.org/pdf/1530/153012921005.pdf>
- PREVEST DenPro (2021). *Endoseal*. <https://www.prevestdenpro.com/product/endoseal/>
- Spoleti, P., Rodriguez, N., y Spoleti, M. (2013). Desinfección de los conos de gutapercha sus efectos en el ajuste apical. *U.N.R Journal*, 1(6), 1-7.
<https://www.rephip.unr.edu.ar/bitstream/handle/2133/2709/94-371-1-PB.pdf>
- Tanomaru, J., Tanomaru-Filho, M., Palhão, M., Watanabe, E., e Ito, I. (2009). Actividad antimicrobiana de diferentes tipos de cimentos endodónticos. *Revista Acta Odontológica Venezolana*, 47(3), 3-10.
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-63652009000300002
- Tapia, M. (2016). *Efecto Antimicrobiano sobre cepa de Enterococcus Faecalis de selladores endodónticos a base de: hidróxido fe calcio, resina epóxica y silicona. Estudio in vitro* [Tesis de licenciatura, Universidad Central del Ecuador].
<http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/7376>
- Valdivia, L. (2011). *Efecto antimicrobiano in vitro de los cimentos endodónticos Endofill, Apexit Plus y Fillcanal, sobre el crecimiento de Enterococcus faecalis y Candida Albicans* [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional de Trujillo].
<https://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/7898>
- Villar, M., y Vargas, O. (2001) *Manual de Fitoterapia*. EsSalud, Organización Panamericana de la Salud. Repositorio EsSalud.

IX. Anexos

Anexo A - Fichas de recolección de datos

GRUPO 1 Muestra Nº	Diámetro del halo de inhibición de la Ampicilina 10µg, a las 24 horas	Diámetro del halo de inhibición del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> al 100%, a las 24 horas	Diámetro del halo de inhibición del cemento Endoseal, a las 24 horas.	Diámetro del halo de inhibición del cemento Apexit Plus, a las 24 horas.	Diámetro del halo de inhibición de la unión del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> al 100% y el cemento Endoseal, a las 24 horas.	Diámetro del halo de inhibición de la unión del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> al 100% y el cemento Apexit Plus, a las 24 horas.
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						

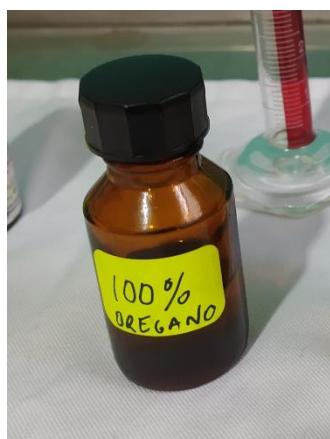
GRUPO 2 Muestra N°	Diámetro del halo de inhibición de la Ampicilina 10µg, a las 24 horas	Diámetro del halo de inhibición del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> al 75%, a las 24 horas	Diámetro del halo de inhibición del cemento Endoseal, a las 24 horas.	Diámetro del halo de inhibición del cemento Apexit Plus, a las 24 horas.	Diámetro del halo de inhibición de la unión del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> al 75% y el cemento Endoseal, a las 24 horas.	Diámetro del halo de inhibición de la unión del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> al 75% y el cemento Apexit Plus, a las 24 horas.
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						

GRUPO 3 Muestra N°	Diámetro del halo de inhibición de la Ampicilina 10µg, a las 24 horas	Diámetro del halo de inhibición del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> al 50%, a las 24 horas	Diámetro del halo de inhibición del cemento Endoseal, a las 24 horas.	Diámetro del halo de inhibición del cemento Apexit Plus, a las 24 horas.	Diámetro del halo de inhibición de la unión del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> al 50% y el cemento Endoseal, a las 24 horas.	Diámetro del halo de inhibición de la unión del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> al 50% y el cemento Apexit Plus, a las 24 horas.
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						

Anexo B - Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	METODOLOGÍA	INSTRUMENTOS
Problema principal ¿Cuál es el efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> , el cemento Endoseal y el cemento Apexit Plus frente al <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212?	- Objetivo General Evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i>, como coadyuvante en el cemento Endoseal y el cemento Apexit Plus frente al <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212. - Objetivos Específicos Determinar el diámetro del halo inhibitorio del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> al 100%, 75% y 50% frente al <i>Enterococcus faecalis</i> a las 24 horas. Determinar el diámetro del halo inhibitorio del cemento Endoseal frente al <i>Enterococcus faecalis</i> a las 24 horas. Determinar el diámetro del halo inhibitorio del cemento Apexit Plus frente al <i>Enterococcus faecalis</i> a las 24 horas. Determinar el diámetro del halo inhibitorio de la unión del cemento Endoseal y el aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> al 100% frente al <i>Enterococcus faecalis</i> a las 24 horas. Determinar el diámetro del halo inhibitorio de la unión del cemento Apexit Plus y el aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> al 100% frente al <i>Enterococcus faecalis</i> a las 24 horas. Determinar el diámetro del halo inhibitorio de la unión del cemento Endoseal y el aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> al 75% frente al <i>Enterococcus faecalis</i> a las 24 horas. Determinar el diámetro del halo inhibitorio de la unión del cemento Apexit Plus y el aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> al 75% frente al <i>Enterococcus faecalis</i> a las 24 horas. Determinar el diámetro del halo inhibitorio de la unión del cemento Endoseal y el aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> al 50% frente al <i>Enterococcus faecalis</i> a las 24 horas. Determinar el diámetro del halo inhibitorio de la unión del cemento Apexit Plus y el aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> al 50% frente al <i>Enterococcus faecalis</i> a las 24 horas.	Hipótesis General El aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> incrementa el efecto antibacteriano del cemento Endoseal y el cemento Apexit Plus frente al <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212.	Variable dependiente Efecto antibacteriano Variable Independiente: Sustancias y pastas experimentales Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> Tipo de cemento endodóntico (Endoseal y Apexit Plus) Unión de aceite esencial de <i>Origanum Vulgare</i> y cemento endodóntico.	Diámetros de los halos de inhibición. Concentración al 100%, 75% y 50%. i. Cemento a base de óxido de zinc y eugenol (Endoseal) ii. Cemento a base hidróxido de calcio (Apexit Plus) i.A.O.100%+ Endoseal. ii.A.O.75%+ Endoseal iii.A.O.50%+ Endoseal iv.A.O.100%+ Apexit plus v.A.O.75%+ Apexit plus vi.A.O.50%+ Apexit plus	Razón Nominal Nominal Nominal	Tipo Transversal Comparativo Prospectivo. Experimental Población Cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212. Muestra 54 placas Petri con cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 Método Observación directa	Ficha de recolección de datos. Vernier Digital

Anexo C - Fotografías de la obtención del aceite esencial de *Origanum vulgare*

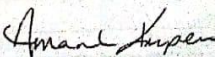


Anexo D – Certificación del *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

Microbiologics

Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: <i>Enterococcus faecalis</i> Catalog Number: 0366 Lot Number: 366-394** Reference Number: ATCC® 29212™ Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2022/12/31 Release Information: Quality Control Technologist: Kalina E. Larsen Release Date: 2021/1/28
---	--

Performance Macroscopic Features: Small to medium, gray/white, translucent, smooth, circular with entire edge Microscopic Features: Gram positive ovoid cells, mostly in pairs or short chains ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Medium: SBAP Method: Gram Stain (1) Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative (1) Bile Esculin Agar: positive (1) Streptomycin (300 mcg - Disk Susceptibility): 14 - 20 mm (1) Gentamicin (120 mcg - Disk Susceptibility): 16 - 23 mm (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): >= 20 mm BHIA w/Vancomycin (6 mcg/ml): Sensitive  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
--	---

**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip 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.



ATCC Licensed Derivative



TESTING CERT #2655.01

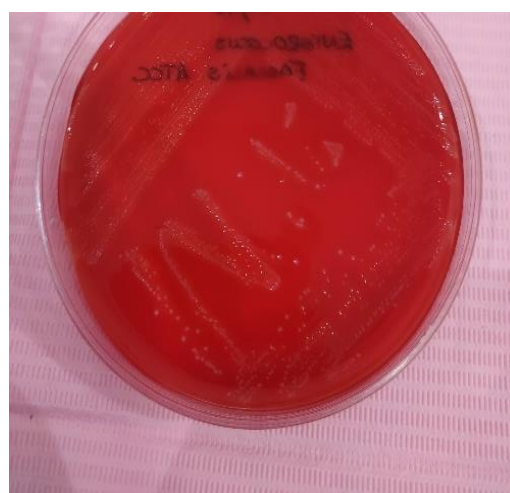
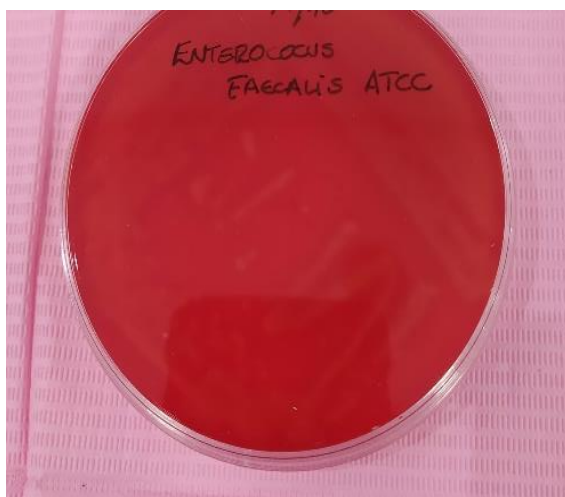
(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiology, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

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

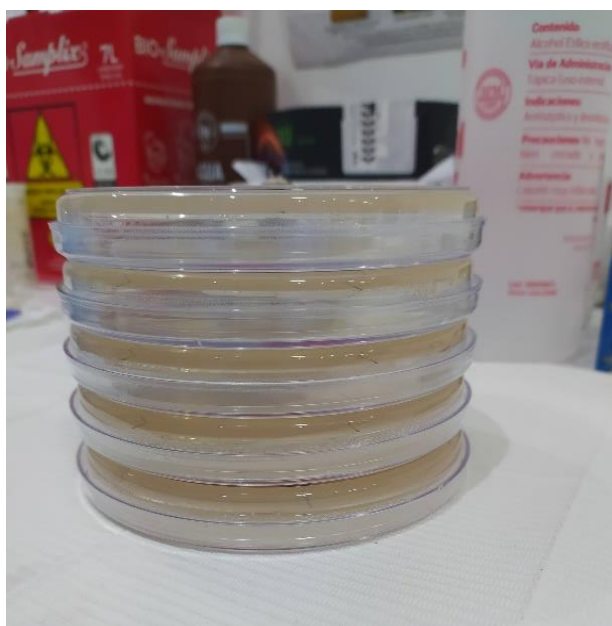
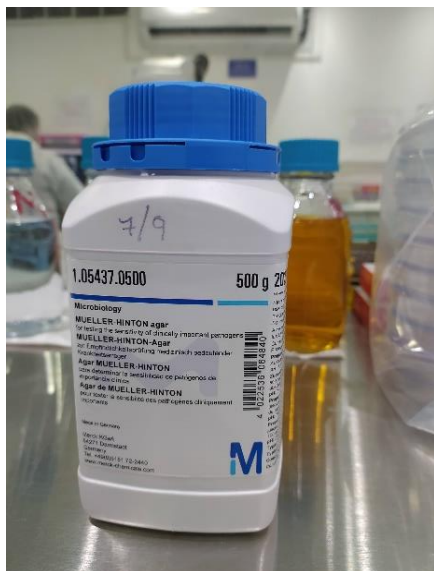
© 2012 Microbiologics, Inc. All Rights Reserved. 200 Cooper Avenue North Saint Cloud, MN 56303 Page 1 of 1 DOC.286



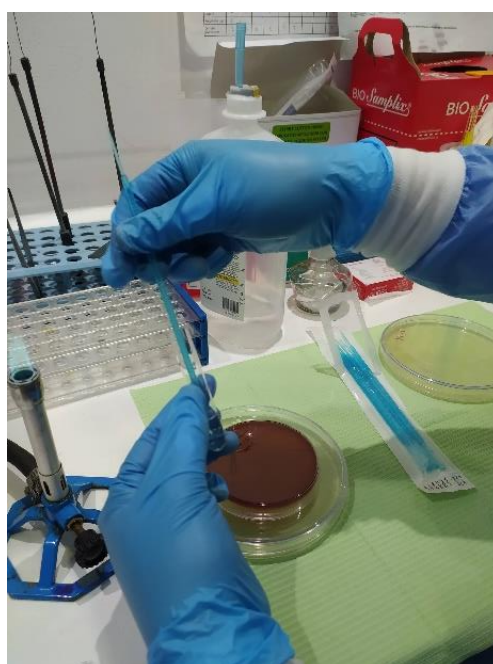
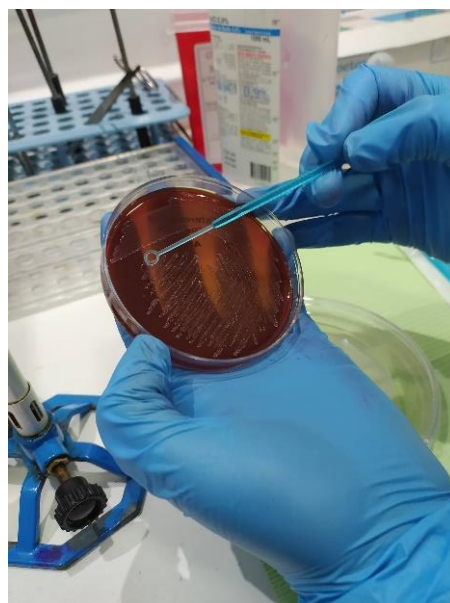
Anexo E - Fotografías de la obtención y activación de las cepas microbianas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212



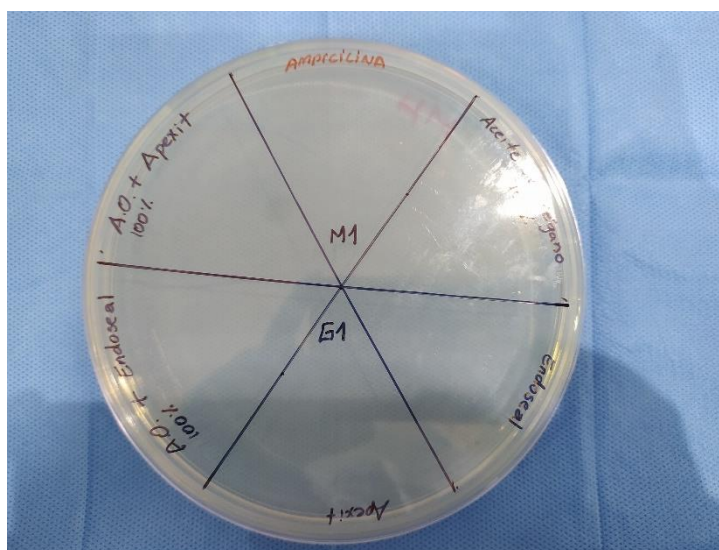
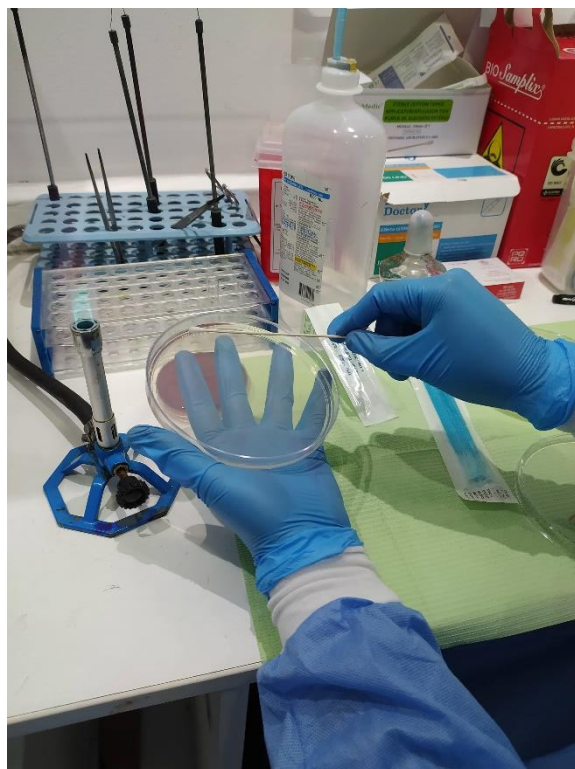
Anexo F - Preparación del medio de cultivo Agar Mueller Hinton



Anexo G - Preparación del inóculo



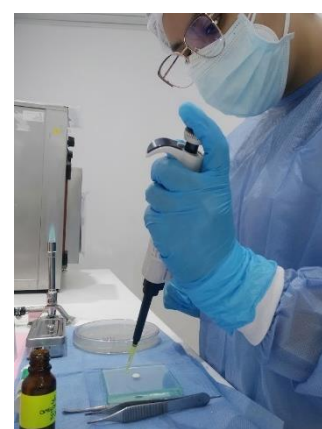
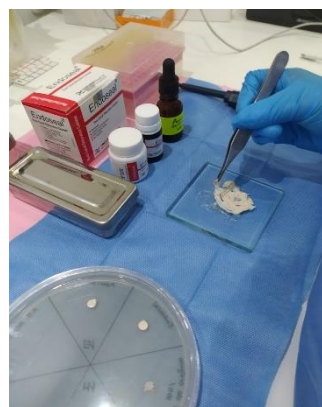
Anexo H – Inoculación de las placas



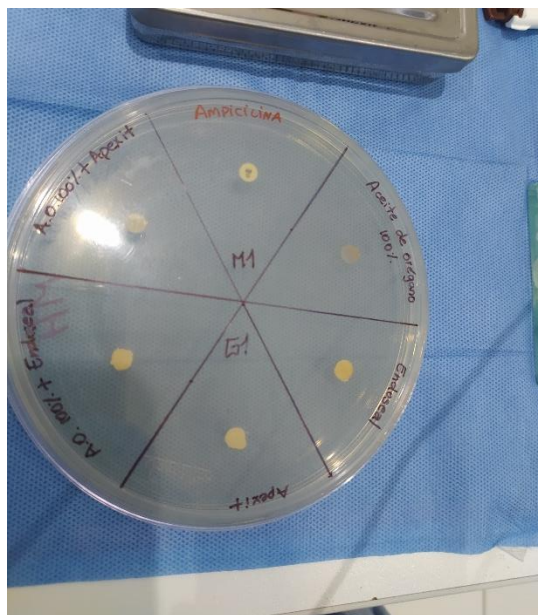
Anexo I – Control positivo (Ampicilina 10µg) / Aceite esencial de orégano al 100%, 75% y 50% / Cemento a base de óxido de zinc y eugenol (Endoseal) / Cemento a base de hidróxido de calcio (Apexit Plus)



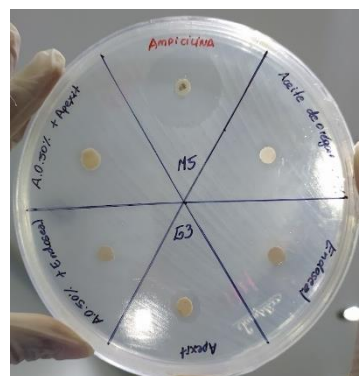
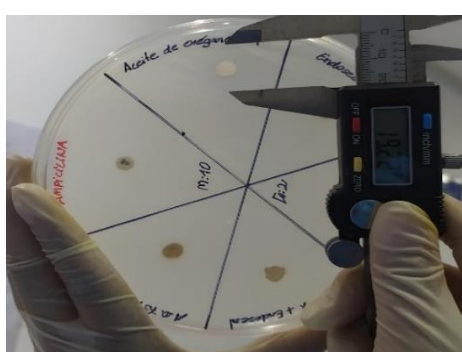
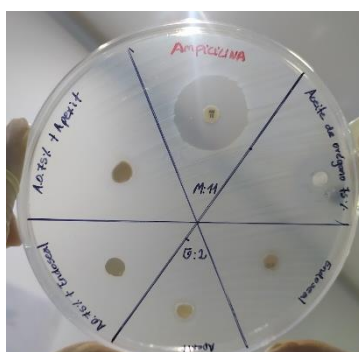
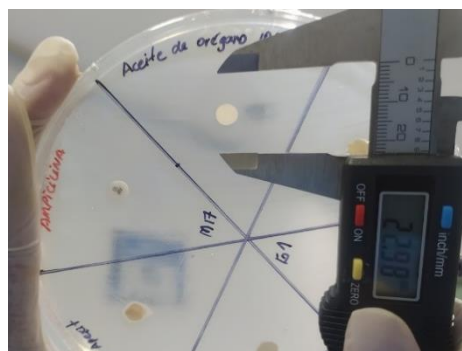
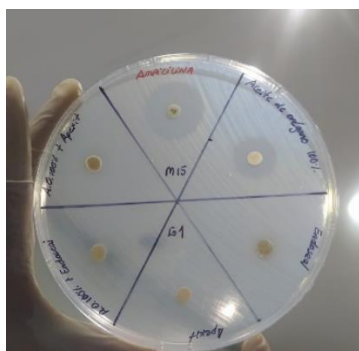
Anexo J – Colocación del Aceite esencial de orégano, de los cementos endodónticos, de las mezclas de aceite con cemento, y del control positivo en las placas Petri



Anexo K – Incubación de las placas Petri



Anexo L – Evaluación del efecto inhibitorio mediante la medición de los halos de inhibición



Anexo M – Carta de presentación.



Universidad Nacional
Federico Villarreal

**FACULTAD DE
ODONTOLOGÍA**

"AÑO DEL BICENTENARIO DEL PERÚ: 200 AÑOS DE INDEPENDENCIA"

OFICINA DE GRADOS Y GESTIÓN DEL EGRESADO

Pueblo Libre, 8 de julio de 2021

**Dr.
JORGE ENRIQUE YUPANQUI SANDOVAL
DIRECTOR MÉDICO
BIOLAB & INMUNOMED - LABORATORIO CLÍNICO
Presente .-**

De mi especial consideración:

Tengo el agrado de dirigirme a usted, con la finalidad de presentarle a la Bachiller Josselynne Rosmery Ocaña Bernal, quien se encuentra realizando su trabajo de tesis titulada:

«EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE *ORIGANUM VULGARE* Y DOS CEMENTOS ENDODÓNTICOS FRENTE AL *ENTEROCOCCUS FAECALIS* ATCC 29212»

En tal virtud, mucho agradeceré le brinde las facilidades del caso a la Srta. Ocaña para la recopilación de datos que le permitirá desarrollar su trabajo de investigación.

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

Atentamente

Dr. FRANCO RAÚL MAURICIO VALENTÍN
DECANO (e)

JOSSELYNNE ROSA HUALMANT PAREDES
(e)
OFICINA DE GRADOS Y GESTIÓN DEL EGRESADO

Se adjunta: Protocolo de Tesis

060-2021

NT: 031657 - 2021

CRH/Luz V.

Calle San Marcos N° 351 – Pueblo Libre -
Correo electrónico: ogtfo@unfv.edu.pe

Telef.: 7480888 - 8335

Anexo N – Constancia emitida por el Químico Farmacéutico

"Decenio de la Igualdad de oportunidades para mujeres y hombres"
"Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia"

CONSTANCIA

Yo, JUAN ROBERTO PEREZ LEON CAMBORDA, Químico Farmacéutico, con el grado de Magister en Recursos Vegetales y Terapéuticos, mediante la presente dejo constar mi colaboración con la bachiller JOSSELYNNE ROSMERY OCAÑA BERNAL, egresada de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Federico Villarreal, en las actividades de preparación de aceite esencial de orégano y sus concentraciones de ensayo, las cuales serán utilizadas para el desarrollo de la tesis titulada: "EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE *ORIGANUM VULGARE* Y DOS CEMENTOS ENDODÓNTICOS FRENTE AL *ENTEROCOCCUS FAECALIS* ATCC 29212".

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

Lima, 05 de octubre de 2021.


J. ROBERTO PEREZ LEÓN C.
QUÍMICO FARMACÉUTICO
COFP. 00431 DIRECTOR TÉCNICO

Anexo Ñ – Carta de aceptación del Laboratorio Clínico.

"AÑO DEL BICENTENARIO"

BIOLAB & INMUNOMED
LABORATORIO CLINICO

CARTA DE ACEPTACION

Fecha: 15 de Julio del 2021

Señores:

UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL

Presente. -

ASUNTO: ACEPTACIÓN DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN EN LABORATORIO

Es grato dirigirnos a Uds. en la oportunidad de comunicarles que la Srta. Josselynn Rosmery Ocaña Bernal, ha sido **aceptada** por nuestra empresa para realizar la ejecución su trabajo de investigación: *"EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE ORIGANUM VULGARE Y DOS CEMENTOS ENDODONTICOS FRENTE AL ENTEROCOCCUS FAECALIS ATCC 29212"*, de acuerdo con los recursos y el asesoramiento requerido para el cumplimiento de las actividades que le sean asignadas.

Esperando que nuestro aporte en la formación del recurso humano sea de gran utilidad para su Institución y para nuestro país, me suscribo de Uds.

Atentamente,



ANTHONY LUIS MUÑOZ BLAS

Recursos Humanos de la Empresa BIOLAB & INMUNOMED

Anexo O – Constancia emitida por el Laboratorio Clínico.

BIOLAB & INMUNOMED
LABORATORIO CLÍNICO

CONSTANCIA

La que suscribe, Dra. Miryam Danitza More Yupanqui, Médico patólogo del laboratorio clínico Biolab&inmunomed,

Certifica que,

JOSELYNNE ROSMERY OCAÑA BERNAL

Bachiller de la facultad de Odontología de la Universidad Nacional Federico Villarreal, ha ejecutado su proyecto de investigación **"EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE ORIGANUM VULGARE Y DOS CEMENTOS ENDODONTICOS FRENTE AL ENTEROCOCCUS FAECALIS ATCC 29212"**, durante el mes de octubre y noviembre del 2021, realizándolo satisfactoriamente.

Se expide el presente documento a solicitud del interesado, para los fines que estime conveniente.

Lima, 18 de enero del 2022

MORE YUPANQUI MIRYAM DANITZA
Médico Patólogo clínico
BIOLAB&INMUNOMED