

**UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONOR ORREGO**  
**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA**



**“Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de  
*Rosmarinus officinalis* (romero) en la desinfección  
de cepillos dentales”**

**TESIS**  
**PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE CIRUJANO DENTISTA**

**AUTORA**

Aguilar García, Cynthia Raquel

**ASESORA:**

Espinoza Salcedo, María Victoria

**COASESORA:**

Mejía Delgado, Elva Manuela

**Trujillo – Perú**

**2019**

## **DEDICATORIA**

Este trabajo está dedicado primero a Dios por haberme permitido lograr mis objetivos. A mi padres Rómulo y Amparo por haberme apoyado en todo momento, por sus sabios consejos, por la motivación constante que me ha permitido ser una buena persona con muchas ganas de seguir creciendo en sabiduría y que sea este el motivo principal por el cual esta tesis sea realizada.

## **AGRADECIMIENTO**

A la Dra. María Victoria Espinoza Salcedo, docente de la escuela profesional de Estomatología de la Universidad Privada Antenor Orrego, asesora de la presente tesis. Por su constante apoyo, orientación y consejo.

A la Dra. Elva Manuela Mejía Delgado, docente de Microbiología de la facultad de Medicina Humana de la Universidad Privada Antenor Orrego, coasesora de la presente tesis. Por su acertada orientación en la realización de este trabajo.

A la Dra. Marilú Roxana Soto Vázquez, docente de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo. Por su colaboración y orientación durante la elaboración del extracto etanólico del romero.

Al personal de laboratorio de Microbiología de la facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional de Trujillo. Por su colaboración y paciencia durante la ejecución del presente proyecto.

## RESUMEN

**Objetivo:** Evaluar la efectividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero), en la desinfección de cepillos dentales.

**Material y Método:** El estudio fue experimental. Se trabajó bajo una concentración de 75 mg/ml del extracto de *R. officinalis* y se comparó con el control positivo gluconato de clorhexidina al 0.12%. Las placas de agar sangre sembradas e inoculadas con la mezcla del extracto etanólico de romero y los microorganismos extraídos de los cepillos dentales, fueron incubadas a 37°C, durante 24 y 48 horas. La lectura se realizó mediante la determinación de unidades formadoras de colonias (UFC). Estos fueron analizados empleando la prueba de comparación de medias, utilizando la distribución T de student con un nivel de significancia del 5%.

**Resultados:** Los microorganismos extraídos de los cepillos dentales fueron susceptibles a la acción del extracto etanólico de romero.

**Conclusiones:** el extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero), mostró efectividad antibacteriana en la desinfección de cepillos dentales.

**PALABRAS CLAVE:** romero, cepillos dentales, microorganismos.

## ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the antibacterial effectiveness *in vitro* of the ethanol extract of *Rosmarinus officinalis* (rosemary) in the disinfection of toothbrushes. **Material and Method:** We worked with a concentration of 75mg / ml of the extract of *R. officinalis* and compared with the positive control chlorhexidine at 0.12%. The blood agar plates seeded and inoculated with the mixture of the ethanolic extract of rosemary and the microorganisms extracted from the toothbrushes were incubated at 37 ° C, for 24 and 48 hours. The reading was done by determining colony forming units (UFC). These were analyzed using the means comparison test, using the student's T distribution with a significance level of 5%. **Results:** our findings show that the microorganisms extracted from toothbrushes were susceptible to the action of *Rosmarinus officinalis* extract. **Conclusions:** the ethanol extract of *Rosmarinus officinalis* (rosemary), showed antibacterial effectiveness against the disinfection of toothbrushes.

**KEY WORDS:** rosemary, toothbrushes, microorganisms

## INDICE

	Pág.
I. INTRODUCCION.....	7
1.1 Realidad Problemática.....	7
1.2 Marco teórico.....	7
1.3 Antecedentes del estudio.....	9
1.4 Justificación del estudio.....	11
1.5 Formulación del problema.....	12
1.6 Hipótesis.....	12
1.7 Objetivos de la investigación.....	12
1.8 Variables.....	13
II. METODOLOGÍA.....	14
2.1 Tipo de investigación.....	14
2.2 Población y muestra.....	14
2.3 Técnicas e instrumentos de investigación.....	14
2.4 Diseño de investigación.....	18
2.5 Procesamiento y análisis de datos.....	19
2.6 Consideraciones bioéticas.....	19
III. RESULTADOS.....	20
IV. DISCUSION.....	21
V. CONCLUSIONES.....	23
VI. RECOMENDACIONES.....	23
VII. REFERENCIAS.....	23
VIII. ANEXOS.....	27

## INDICE DE TABLAS

**TABLA N° 1:..... ¡Error! Marcador no definido.**

**TABLA N° 2:..... ¡Error! Marcador no definido.**

**TABLA N° 3:..... ¡Error! Marcador no definido.**

# I. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Realidad Problemática

Para una adecuada higiene oral se debe de tener en cuenta las técnicas de limpieza usadas en la cavidad oral que abarcan: los labios, dientes, lengua, encías, carillos, paladar y glándulas. Se basa en acoplar métodos mecánicos y químicos para retirar y contrastar la formación del biofilm. Esta biopelícula está compuesta por una gran diversidad de bacterias, células epiteliales descamadas, agua y restos alimenticios; por lo que esta, se adhiere en los dientes y en las superficies blandas de nuestra cavidad oral. <sup>1,2</sup>

El principal método para mantener la higiene oral es el cepillado dental, sin embargo estudios han manifestado el crecimiento, en los cepillos, microorganismos orales y ambientales; aun cuando se haya enjuagado en agua corriente después de su uso. Esto se debe a que sus cerdas se contaminan con bacterias, saliva, sangre y desechos orales durante el cepillado pero también con microorganismos que se encuentran en los ambientes sanitarios al almacenarlos en dichos lugares. Generando así, una fuente de contaminación cruzada en la cavidad oral. <sup>3,4</sup>

Ante el mal uso que existe en la actualidad sobre el recurso aplicado para el cuidado del cepillo dental, se presenta la problemática de que puede llegar a causar patologías que al no ser tratadas a tiempo, producirán malestares y enfermedades con un deterioro de la cavidad bucal. <sup>5</sup>

## 1.2 Marco teórico

El cepillo dental es morada de microorganismos, pues en la cavidad oral se albergan múltiples colonias de gérmenes, que se transfieren en el cepillo durante su uso, agregando a los patógenos alojados en los servicios sanitarios como microorganismos intestinales. En la

bibliografía recopilada en el estudio de Jaimes, Y; Carvajal, A, indica que se han hallado los siguientes patógenos:

*S. Mutans; Bifidobacterium; Lactobacillus sp; S. Aureus; Pseudomonas; S. Pyogenes; S. Viridans; S. Salivarius; Candida Albicans; E.Coli; Enterococo Fecalis; Enterococcus sp; Enterobacter; Klebsiella; S. Epidermidis; P. Aeruginosa; Herpes Simplex; Corynebacterium; Bacteroides Sp; Proteus Sp; Moraxella Catarrhalis; S. Saprophyticus*<sup>6,7</sup>.

En la actualidad la caries dental sigue siendo la principal patología bucodental que afecta a la población de cualquier edad, raza, género. Las personas que son más propensas a padecerla son los de estratos sociales bajos, así mismo se vincula con el nivel bajo educativo y económico, en el que se ve reflejado al no tener buenos y correctos hábitos higiénicos como tampoco los recursos que implican la utilización de insumos necesarios para una limpieza oral adecuada. Desencadenando deterioro de las piezas dentarias y consecutivamente los órganos de la cavidad bucal.

Uno de los muchos factores que causan la caries está la presencia del agente *Streptococcus mutans*.<sup>8</sup> Es un coco Gram positivo, anaerobio facultativo, inmóvil; que se dispone en parejas y cadenas fermentando los carbohidratos como: la sacarosa, glucosa y fructuosa para luego dar como resultado productos metabólicos ácidos que cambian un de un pH neutral 7 a un pH 4.2 dentro de las 24 horas, y consecuentemente produciendo la desmineralización de los órganos dentarios.<sup>9</sup>

La descontaminación del cepillo dental es sustancial para suprimir los microorganismos patógenos.<sup>10</sup> Existen diversos métodos para la desinfección del cepillo de dientes, que implica la inmersión de los mismos en soluciones antimicrobianas.<sup>11</sup>

Dentro de los productos naturales con actividad antibacteriana en la cavidad oral tenemos al *Rosmarinus officinalis* (romero). Los efectos farmacológicos conocidos de esta planta son atribuibles a sus componentes fenólicos que se encuentran localizados principalmente en las hojas, como el ácido rosmarínico, el ácido carnósico y el carnosol. Estos compuestos fenólicos tienen efectos antioxidantes naturalmente fuertes; entre ellos, el ácido carnósico y el carnosol representan el 90% de actividad antioxidante de *R. officinalis*. Siendo así capaces de inhibir el crecimiento de colonias de bacterias patógenas Gram positivas y Gram negativas.<sup>12</sup>

El *Rosmarinus officinalis* (romero) corresponde a la familia *Labiatae* (Labiadas), crece en la costa mediterránea rocosa y arenosa. Se aclimataron en el Perú y se cultiva en la costa, sierra y selva hasta 3.500 metros de altura sobre el nivel del mar. Sus características son: hojas lineares, coriáceas, de color verde, tubular y enérgico aroma agradable, su tamaño es de 1,50 m. Sus hojas y tallos son utilizados en infusiones, en la comida y en fines medicinales.<sup>13, 14.</sup>

Goza de propiedades antiespasmódicas, antiinflamatorias, antisépticas, antifúngicas y antibacterianas.<sup>15</sup> Con los estudios ejecutados se ha revelado que existe un poder de inhibición del crecimiento de bacterias y las síntesis de glucano, lo que conlleva el uso del romero como un buen coadyuvante en el control de las bacterias vinculadas con la caries dental.<sup>16</sup>

### **1.3 Antecedentes del estudio**

Hickl (2018) Determinó que el uso de agentes antimicrobianos derivados de las plantas podría ser apto como un efectivo tratamiento alternativo contra las infecciones orales. Investigó la actividad antimicrobiana de los extractos de hierbas mediterráneas *Cistus creticus*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis* y *Thymus longicaulis*, en contra de microorganismos orales representativos. En

singular el *R. officinalis* y *S. sclarea* evidenciaron la mayor actividad antibacteriana.<sup>17</sup>

Tardugno (2018) Evaluó la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales (EOs) contra microorganismos circunscritos en las enfermedades orales como el *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus species*. Seleccionó catorce EOs: *Rosmarinus officinalis*, *Eucaliptus globulus*, *Mentha arvensis*, *Salvia officinalis* y *Thymus vulgaris*. La cantidad de clorhexidina requerida para inhibir el crecimiento bacteriano se redujo en asociación con los EOs, pero singularmente en combinación con el *R.officinalis*, *T.capitatusand* y *T.vulgaris*, también en este caso se contempló un efecto de sinergismo. <sup>18</sup>

Oliveira (2017) Demostró que el extracto etanólico del *Rosmarinus officinalis* contribuyó eficazmente al control *in vitro* de importantes especies de microorganismos como *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, y *Pseudomonas aeruginosa* en biofilms mono y polimicrobianos que son responsables de cuantiosas infecciones en la cavidad oral como en otras regiones del cuerpo. Asimismo, este extracto fomentó también la viabilidad celular por encima del 50% a concentraciones <50 mg / ml, magnífico efecto antiinflamatorio. <sup>19</sup>

Solano (2016) Determinó el refreno del crecimiento *in vitro* de la bacteria *Streptococcus mutans*, utilizando extractos acuoso y oleoso de romero. Los extractos acuosos y el agua destilada no produjeron un halo de inhibición. En cambio, el oleoso dio como resultado 11,93 mm de halo de inhibición, en comparación con la clorhexidina que dio 16.13 mm. Ultimó que el extracto oleoso del romero presenta efectividad antibacteriana sobre la ya mencionada bacteria, con resultados efectivos semejantes a la clorhexidina. <sup>20</sup>

Valones (2016) Evaluó el efecto antibacteriano de un dentífrico que contiene extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* frente a

bacterias orales comparado con un dentífrico herbal comercialmente disponible. Se usaron cepas de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis* y *Lactobacillus rhamnosus*. Se observó que la pasta dental que contiene extracto de romero tenía la habilidad de inhibir el crecimiento de las bacterias estudiadas mostrando una actividad antibacteriana similar a la pasta dental comercialmente disponible para la inhibición de *S. mutans* y *S. oralis*.<sup>21</sup>

Tacca (2014) Determinó la efectividad antibacteriana *in vitro* del aceite de *Rosmarinus officinalis* frente a *Streptococcus viridans*, *Actinomyces sp* y *Lactobacillus spp* dichos microorganismos presentes en la placa bacteriana. Se comparó el diámetro de los halos inhibitorios del *Rosmarinus officinalis*, gluconato de clorhexidina al 2% y el agua destilada frente a las bacterias estudiadas. Se reveló que el gluconato de clorhexidina al 2% presenta una mayor efectividad que el romero contra el *S. viridans*, *Actinomyces sp*, pero frente al *Lactobacillus spp*. Ambos estadísticamente presentaron la misma eficiencia antibacteriana.<sup>22</sup>

Rodriguez (2014) Evaluó la efectividad inhibitoria *in vitro* del crecimiento de *S. pyogenes*, *S. aureus* y *P. aeruginosa*, utilizando el extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* en concentraciones de 5; 10; 15; 20; 25; 30; 35; 40; 45 y 50 mg/ml. Se concluyó que el producto vegetal presentó efectividad sobre al *Streptococcus pyogenes* y *Staphylococcus aureus*, en los que dichos microorganismos se ven relacionados en infecciones respiratorias altas; mientras que frente al *Pseudomonas aeruginosa* no mostró ningún efecto.<sup>23</sup>

#### **1.4 Justificación del estudio**

La caries dental es una de las patologías más prevalentes, teniendo como su agente principal responsable al *Streptococcus mutans*, siendo así una gran problemática en la salud pública.<sup>24</sup> Es por eso, hacer uso del cepillo dental simboliza el primordial procedimiento para preservar una buena limpieza bucal, con el propósito de

disminuir el riesgo cariogénico, sin embargo investigaciones han evidenciado que diversas colonias de microorganismos tanto orales como ambientales crecen en los cepillos dentales generando una fuente de contaminación en la cavidad oral.

Ante esta problemática nos dirigimos a buscar medidas preventivas que mengüen la carga bacteriana, proponiendo un procedimiento que presente efectividad en la desinfección de los cepillos dentales haciendo uso de agentes naturales con fácil acceso, bajo costo y sin la presencia de efectos adversos para nuestra salud.

Teniendo en consideración de varios estudios realizados, con resultados positivos, determinando que existe propiedades antibacterianas del romero frente a microorganismos que causan enfermedades bucales; es que se propuso ejecutar el presente estudio con el propósito de determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis*, en la desinfección de cepillos dentales.

## **1.5 Formulación del problema**

¿Presenta efectividad antibacteriana *in vitro* el extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) en la desinfección de cepillos dentales?

## **1.6 Hipótesis**

El extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero), si presenta efectividad antibacteriana en la desinfección de cepillos dentales.

## **1.7 Objetivos**

### **1.7.1 General**

Evaluar la efectividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero), en la desinfección de cepillos dentales.

### 1.7.2 Específicos

- ✓ Determinar la efectividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* al 75 mg/ml, en la desinfección de los cepillos dentales mediante la determinación de UFC. A las 24 horas.
- ✓ Determinar la efectividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* al 75 mg/ml, en la desinfección de los cepillos dentales mediante la determinación de UFC. A las 48 horas.

### 1.8 Variables

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Tipo de variable		Escala de Medición
			Naturaleza	Función	
Extracto etanólico de <i>Rosmarinus officinalis</i>	Es una hierba que sus compuestos fenólicos son el ácido rosmarínico, el ácido carnósico y el carnosol tienen efectos antioxidantes naturalmente fuertes. Siendo así capaces de inhibir el crecimiento de colonias de bacterias patógenas Gram positivas y Gram negativas. <sup>12</sup>	Concentración del extracto etanólico de <i>Rosmarinus officinalis</i> al 75 % <b>Control positivo:</b> gluconato de clorhexidina al 0.12%	Cualitativa	Independiente	Nominal
Efecto antibacterial	Es la aptitud de erradicar, inactivar y refrenar la proliferación de agentes patógenos como bacterias, virus y protozoos, mediante procesos físicos o químicos. <sup>25</sup>	UFC.	Cuantitativa	Dependiente	De Razón

## II. METODOLOGÍA

### 2.1 Tipo de investigación

Según el período en que se capta la información	Según la evolución del fenómeno estudiado	Según la comparación de poblaciones	Según la interferencia del investigador en el estudio	Según forma de recolección de datos
Prospectivo	Longitudinal	Comparativo	experimental	Prolectivo

### 2.2 Población y muestra

#### 2.2.1. Características generales.

Se evaluaron 25 placas de agar sangre inoculadas con el extracto etanólico de romero al 75% con bacterias extraídas de los cepillos dentales y 25, con la clorhexidina al 0.12%

##### 2.2.1.1. Criterios de inclusión:

- ✓ Estudiantes que deseen participar en la investigación previa firma de su consentimiento informado.
- ✓ Estudiantes que utilicen cepillos de estreno para realizar la investigación.
- ✓ Estudiantes que utilicen el cepillo dental por el tiempo requerido.

##### 2.2.1.2. Criterios de exclusión:

- ✓ Estudiantes con dificultad de control psicomotriz.
- ✓ Estudiantes que padezcan de enfermedades sistémicas con manifestación oral (hemolíticos)

### 2.3 Técnicas e instrumentos de investigación

#### 2.3.1 De la aprobación del proyecto

La aprobación del proyecto fue dada por el Comité Permanente de Investigación Científica de la Universidad Nacional de Trujillo con la correspondiente Resolución Decanal.

### **2.3.2 De la autorización para la ejecución**

Se contó con la autorización del laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo.

### **2.3.3 Descripción del procedimiento**

#### **2.2.3.1 De la recolección de datos**

##### **2.2.3.1.1 cepillo dental**

Se solicitó al director de la institución educativa María Negrón Ugarte, la autorización para realizar la ejecución del proyecto.

Se informó a los estudiantes sobre el procedimiento y la finalidad de la investigación, entregándoles un consentimiento informado en el que se comprometían a cumplir con las directrices solicitadas para obtener resultados confiables y del mismo modo la hoja de registro de los días en que tenían que cepillarse.

Se entregó un cepillo dental nuevo, compuesto por: cerdas de consistencia suave y punta redondeada que no dañan las encías durante el cepillado; cabeza ultra compacta para alcanzar las zonas más distales de la boca; limpiador de lengua para remover las bacterias que causan el mal aliento; mango anatómico para un mejor control durante el cepillado.<sup>26</sup>

Luego de darles una charla educativa sobre una correcta técnica de cepillado, indicándoles el tiempo de uso, como también, el adecuado almacenamiento y el número de veces durante el día por una semana en que deben cumplir su cepillado, al concluir la semana se recogieron los cepillos almacenados en bolsas estériles para evitar la contaminación cruzada hasta el desplazamiento del laboratorio.

Una vez ya teniendo los cepillos en el laboratorio se procedió a cortar solo la cabeza de los cepillos dentales previstos en un ambiente limpio con guantes, discos recortadores de los cepillos estériles, guantes y mascarillas.

#### **2.2.3.1.2 Obtención del Extracto Etanólico de *R. officinalis***

##### ✓ **Selección y lavado de la muestra**

Las hojas fueron seleccionadas teniendo en cuenta que estén en buenas condiciones. Luego se procedió a lavar las hojas con agua destilada.

**Secado:** Las hojas fueron colocadas por separado sobre papel Kraft y sometidas a secado primero a temperatura ambiente por 24 horas, y luego en la estufa a una temperatura de 40°C.

**Pulverización:** Una vez secadas las hojas se pulverizó con ayuda de un molino.

**Tamizaje:** El material obtenido de la pulverización, se pasó a través del tamiz N° 0.7.

**Almacenamiento:** El polvo de las hojas obtenidas, se guardaron en un frasco de vidrio de color ámbar de boca ancha.

##### ✓ **Preparación del extracto etanólico**

Se pesaron 100 g de polvo de hojas y luego se colocó en un recipiente de vidrio de boca ancha color ámbar. Posteriormente, se añadió etanol 70% v/v 2 litros. Se mezcló bien, teniendo en cuenta que

la mezcla debe ocupar como máximo las  $\frac{3}{4}$  partes del recipiente. Se tapó el recipiente y se maceró por 7 días, agitándose 15 minutos, dos veces al día. Transcurrido el tiempo de maceración, se filtró el macerado usando una bomba de vacío, con papel de filtro Whatman N° 1. Al líquido filtrado se le denominará extracto etanólico.

#### **2.2.3.2. Del instrumento de recolección de datos**

Se realizó 25 repeticiones por cada grupo. Para el extracto etanólico del romero a una concentración de 75% y el grupo control positivo la clorhexidina al 0.12%.

Se colocaron las cabezas de los cepillos dentales en cada tubo de ensayo estéril conteniendo caldo de tioglicolato. Y se llevó a incubar a 37° C por un periodo de 24 horas en condiciones de microanaerobiosis los tubos de ensayo dentro una jarra gaspak.

Pasados las 24 horas se centrifugó cada tubo de ensayo con las cabezas de los cepillos por 5 minutos en 3 mil rpm. Se extrajo 0.1 ml del contenido y se le agregó a otro tubo de ensayo que contenía 4 ml de extracto etanólico del romero. Se dejó incubar nuevamente por 24 horas a 37° C.

Luego se extrajo 0.1 ml de las suspensiones de cada tubo y se sembró en las placas con Agar-sangre con la ayuda de la asa driglasky para luego para determinar las unidades formadoras de colonias (UFC) después de las 24 y 48 horas tanto del extracto etanólico del *Rosmarinus officinalis* al 75% y de la clorhexidina al 0.12%

## 2.4 Diseño de investigación

**2.4.1 Unidad de Análisis:** cultivo de los cepillos dentales empleados por los estudiantes del centro educativo María Negrón Ugarte.

**2.4.2 Unidad de muestreo:** cepillos dentales.

**2.4.3 Tamaño muestral:** Para determinar el tamaño muestral, por ser experimental se empleó la siguiente formula:

$$n = \frac{(Z\alpha/2 + Z\beta)^2 2s^2}{(X_1 - X_2)^2} \quad \text{Y} \quad n_f = \frac{(gl+3)}{gl + 1}$$

### Dónde:

- $n$ : es la muestra preliminar
- $n_f$ : es la muestra reajustada
- $Z\alpha/2 = 1.96$  para una confianza del 95%
- $Z\beta = 0.84$  para una potencia del 80%
- $S = 1.2 (X_1 - X_2)$  Es el valor asumido por no haber estudios similares

### Reemplazando:

$$n = \frac{(1.96 + 0.84)^2 2((X_1 - X_2)^2 (1.2)^2)}{(X_1 - X_2)^2} = 23$$

$$n_f = 23(27/25) = 25 \text{ repeticiones}$$

Por lo tanto la muestra se conformó por **25 repeticiones** para cada grupo.

## **2.5 Procesamiento y análisis de datos**

Para procesar la información se hizo uso de los paquetes estadísticos Excel y SPSS versión 20. Se construyó tablas de frecuencias de una entrada con sus valores absolutos, promedio, desviación estándar.

Para determinar si presenta diferencias del efecto antibacteriano del extracto de romero al 75% con el gluconato de clorhexidina al 0.12% se utilizó la prueba de comparación de medias, utilizando la distribución T de student con un nivel de significancia del 5%.

## **2.6 Consideraciones bioéticas**

La presente investigación se desarrolló respetando los diversos principios bioéticos fundamentales de la investigación. Se cumplió con las especificaciones éticas de protección a los participantes haciendo uso del consentimiento informado y voluntario de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki de la asociación médica mundial, adoptada por la 64° asamblea general (Fortaleza-Brasil 2013).<sup>27</sup>

Para no dañar el medio ambiente, al ser una investigación experimental médica. Se tuvo en consideración la manipulación y desecho de las muestras de acuerdo al manual de bioseguridad en laboratorios de microbiología y medicina durante la ejecución del estudio.

### III. RESULTADOS

TABLA N° 1:

*Resultados de la efectividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de Rosmarinus Officinalis (romero) en la desinfección de cepillos dentales (U.F.C.)*

Grupo	n	24 horas		48 horas	
		$\bar{X}$	S	$\bar{X}$	S
Extracto Etanólico de Romero 75 %	25	2.56	2.63	3.64	3.59
Clorhexidina del 0.12 %	25	0.0	0.0	0.0	0.0

TABLA N° 2:

*Comparación de la efectividad antibacteriana a las 24 horas del extracto etanólico y clorhexidina en la desinfección de los cepillos dentales (U. F. C.)*

Parámetros	Extracto Etanólico de <i>Rosmarinus officinalis</i> al 75 %	Gluconato de Clorhexidina al 0.12 %
Muestra	25	25
Promedio	2.56	0.0
Desviación Estándar	2.63	0.0
t		4.8669
p		0.0001

TABLA N° 3:

*Comparación de la efectividad antibacteriana a las 48 horas del extracto etanólico y clorhexidina en la desinfección de los cepillos dentales (U. F. C.)*

Parámetros	Extracto Etanólico de <i>Rosmarinus officinalis</i> al 75 %	Gluconato de Clorhexidina al 0.12 %
Muestra	25	25
Promedio	3.64	0.0
Desviación Estándar	3.59	0.0
t		5.0696
p		0.0000

En la **tabla 1** nos muestra la comparación de la efectividad antibacteriana entre el romero y la clorhexidina. El conteo mediante UFC a las 24 horas de las 25 placas con el romero al 75% fue (2.56) de promedio y a las 48 horas fue de (3.59); en cambio las 25 placas de clorhexidina al 0.12% a las 24 horas y 48 horas fue de (0.0).

En la **tabla 2** presenta la comparación del efecto antibacteriano entre el romero al 75% y la clorhexidina al 0.12% mediante la determinación de UFC a las 24 horas, mostrando una prueba de comparación de media (4.8669) y una significancia de (0.0001).

En la **tabla 3** presenta la comparación del efecto antibacteriano entre el romero al 75% y la clorhexidina al 0.12% mediante la determinación de UFC a las 48 horas, mostrando una prueba de comparación de media (5.0696) y una significancia de (0.0000).

#### **IV. DISCUSION**

Teniendo en consideración de estudios realizados, se ha evidenciado que diversos agentes patógenos orales y ambientales crecen en los cepillos dentales generando una fuente de contaminación en la cavidad oral.

En el estudio se evaluó el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* a una concentración de 75 mg/ml, sobre los agentes polimicrobianos extraídos de 25 cepillos dentales que fueron usados por los estudiantes durante una semana.

Se hizo el sembrado de la solución compuesta por el extracto etanólico del romero con los microorganismos extraídos de los cepillos en 25 placas agar sangre haciéndose el conteo mediante la determinación de unidades formadoras de colonias (UFC) a las 24 y 48 horas. Y del mismo, modo del grupo control positivo, el gluconato de clorhexidina al 0,12%.

El propósito de este estudio fue proponer un procedimiento que presente efectividad en la desinfección de los cepillos dentales mediante agentes naturales de fácil acceso, bajo costo y sin la presencia de efectos adversos para nuestra salud. De esa forma reducir el crecimiento bacteriano de agentes patógenos que afectarían negativamente en nuestra cavidad oral.

Mis resultados encontrados concuerdan con los hallados por Hickl (2018) ya que determinó que la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos de hierbas mediterráneas investigadas, especialmente *Rosmarinus officinalis* evidenció la mayor actividad antibacteriana frente a patógenos encontrados en boca.

También es similar a lo hallado por Rodríguez (2014) donde el extracto etanólico de romero presenta un efecto inhibitorio frente a dichos microorganismos, presentando mayor efectividad en la concentración de 50 mg/ml.

En mis resultados se demuestra que el extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* al 75% muestra significativamente efectividad antibacteriana frente a los microorganismos extraídos de los cepillos dentales.

Del mismo modo, hay similitud con Oliverira (2017) pues, demostró que el extracto etanólico del *Rosmarinus officinalis* evidenció un crecimiento reducidos en las unidades formadores de colonias (UFC) de las bacterias causantes de infecciones orales.

En mis resultados se corroboró que las bacterias extraídas de los cepillos de dientes son vulnerables al poder antibacteriano del extracto etanólico de romero con una concentración de 75%, evidenciándose en la presencia mínima del crecimiento bacteriano en UFC.

Asímismo, es concordante con los estudios de Tardugno (2018), Solano (2016), Tacca (2014), los cuales usan la clorhexidina como control

positivo para comparar la efectividad antimicrobiana del *Rosmarinus officinalis*. Demostrando en sus resultados que el romero presenta una eficacia muy similar al gluconato de clorhexidina.

## V. CONCLUSIONES

- ✓ El extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis*, presentó efectividad antibacteriana *in vitro* en la desinfección de cepillos dentales.
- ✓ El extracto etanólico de romero al 75 mg/ml, presentó efectividad antibacteriana en la desinfección de los cepillos dentales mediante la determinación de UFC. a las 24 horas.
- ✓ El extracto etanólico de romero al 75 mg/ml, mantuvo efecto residual antibacteriana a las 48 horas

## VI. RECOMENDACIONES

- ✓ Evaluar efecto residual por más tiempo, a las 72 horas a más.
- ✓ Hacer estudios *in vivo* pues, tiene efectos muy similares a la clorhexidina y no tiene efectos adversos.

## VII. REFERENCIAS

1. García Perdomo C, Molina Dorcel BM, Recio López VM. Salud Capital Colombia, Guía de práctica clínica en salud oral. [Online]. Bogotá; 2010 [cited 2016 Octubre 28. Available from: <http://www.saludcapital.gov.co/DSP/Documentos%20Salud%20Oral/Gu%C3%ADa%20de%20Pr%C3%A1ctica%20Cl%C3%ADnica%20e%20Salud%20Oral%20-%20Higiene%20Oral.pdf>
2. California Dental Association, Salud Bucal y Enfermedades Sistémicas. [Online]. [cited 2016 Octubre 29. Available from: [http://www.cda.org/Portals/0/pdfs/fact\\_sheets/oral\\_health\\_spanish.pdf](http://www.cda.org/Portals/0/pdfs/fact_sheets/oral_health_spanish.pdf).

3. A. Rahman Zamani MM. ,University of California, San Francisco ,Hoja de Hechos para Familias , El Cuidado del Cepillado Dental es Importante. [Online]. [cited 2016 Noviembre 2. Available from: <http://cchp.ucsf.edu/sites/cchp.ucsf.edu/files/ToothbrushCareSP052306.pdf>.
4. Herrera Sandoval LV. Actividad antimicrobiana del ácido acético y el cepillo Colgate 360ºantibacterial: Un estudio *in vitro*. Revista Facultad de Odontología Universidad de Antioquia. 2012 Diciembre 24.
5. Laserna, Vicente. Higiene Dental Personal Diaria. 1ª ed. Canada: Trafford publishing; 2008.
6. Geisinger, María. Cinco cosas que quizás no sabe de su cepillo de dientes. BBC Mundo. 2014. Obtenido de: [https://www.bbc.com/mundo/noticias/2014/05/140508\\_salud\\_higiene\\_cepillo\\_dientes\\_gtg](https://www.bbc.com/mundo/noticias/2014/05/140508_salud_higiene_cepillo_dientes_gtg)
7. Jaimes, Yuri; Andrés, Carvajal. Contaminación bacteriana en los cepillos de dientes, uso, cuidado y descontaminación. Tesis de Grado. Universidad Industrial de Santander;2014.
8. Guerrero Reynoso VM. Epidemiología de caries dental y factores de riesgo asociados a la dentición primaria en preescolares. ADM. 2009 Mayo-Junio; LXV.
9. Ojeda Garcés JC. Streptococcus mutans y caries dental. Revista CES Odontología. 2013. Primer Semestre; 26(1).

10. Konidala U, Nuvvula S, Mohapatra A and Nirmala SVSG. Efficacy of various disinfectants on microbially contaminated toothbrushes due to brushing. *Contemp Clin Dent*. 2011 Oct-Dec; 2(4): 302–307.
11. Chandradas D, Jayakumar HL, Chandra M, Katodia L and Sreedevi A. Evaluation of antimicrobial efficacy of garlic, tea tree oil, cetylpyridinium chloride, chlorhexidine, and ultraviolet sanitizing device in the decontamination of toothbrush. *Indian J Dent*. 2014 Oct-Dec; 5(4): 183–189.
12. Zahabiyoun S, Sahabi M, Javad M. Improving Knowledge of General Dental Practitioners on Antibiotic Prescribing by Raising Awareness of the Faculty of General Dental Practice (UK) Guidelines. *J Dent (Tehran)*. 2015; 12(3): 171-176.
13. Marchiori F. *Rosmarinus officinalis* Linn. Monografía de Conclusão do Curso de Fitomedicina. 32 f. Argentina de Fitomedicina. Fundação Herbarium. 2004.
14. Argueta A. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. 1994.
15. Tránsito M. El romero Planta aromática con efectos antioxidantes. 2008 jul/ago; 27 (7): 60-64.
16. Silva M, Vieira J Sheila J, Vieira M, Guedes M. Atividade antimicrobiana e antiadherente in vitro do extrato de *Rosmarinus officinalis linn.* (alecrim) sobre microorganismos cariogénicos. *Arquivos em Odontología* 2008 abr/jun; 44 (2)
17. Hickl J, Argyropoulou A, Sakavitsi ME, Halabalaki M, Al-Ahmad A, Hellwig E, et al. Mediterranean herb extracts inhibit microbial growth of representative oral microorganisms and biofilm formation of *Streptococcus mutans*. *PLoS ONE*. 2018;13(12):1-24

18. Tardugno R, Pellati F, Iseppi R, Bondi M, Bruzzesi G, Benvenuti S. Phytochemical composition and in vitro screening of the antimicrobial activity of essential oils on oral pathogenic bacteria, *Natural Product Research*, 2018; 32(5):544-551.
19. Oliveira J, De Jesus D, Figueira L, et al. Biological activities of *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary) extract as analyzed in microorganisms and cells. *Experimental Biology and Medicine*. 2017; 0:1-10.
20. Solano X, Moya T, Zambrano M, Inhibición del *Streptococcus mutans*, mediante el uso de extracto acuoso y oleoso de *Rosmarinus officinalis* "romero". *Odontologia*. 2016; 19(2) 29-34.
21. Valones M, Higino J, et al. Dentifrice Containing Extract of *Rosmarinus officinalis* Linn.: An Antimicrobial Evaluation. *Brazilian Dental Journal*. 2016; 27(5): 497-501.
22. Tacca Q, Janet E, et al. Efecto antibacteriano in vitro del *Rosmarinus Offocinalis* sobre el *Streptococcus Viridans*, *Actinomyces sp* y *Lactobacillus spp*. *Rev. estomatol. Altiplano*. 2014; 1(2): 57-62.
23. Rodríguez Y, Espinoza S, Vergara M, et al. Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* L. "Romero" sobre el crecimiento *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev. Salud & Vida Sipanense*. 2014;1(2):63-75
24. López Martínez L. La caries, gingivitis, periodontitis y la maloclusión siguen siendo las afecciones estomatológicas. *iMedPub Journals*. 2013; 9(4:2)
25. Hospital Alemán Asociación Civil. (2018), disponible en : <https://www.hospitalaleman.org.ar/diccionario-medico/i/>.

26. Colgate, Palmolive. Cepillo Dental Colgate Extra Clean Professional.  
Obtenido de: <http://www.colgateprofesional.com.mx/productos/Cepillo-Dental-Colgate-Extra-CleanProfess> (último acceso 13 de enero del 2016)
27. Asamblea Médica Mundial. Declaración de Helsinki. Finlandia:  
AMM; 1964.

## VIII. ANEXOS

### ANEXO 01: Instrumento de colección de datos



Proceso de la elaboración del extracto etanólico de romero



1. tubo de ensayo con tioglicolato
2. cabeza de cepillos
3. incubación de los cepillos en la iarra Gaspak por 24 h. en la estufa a 37°C



1. Centrifugación por 5 minutos a 3 mi rrp
2. 0.1 ml de contaminante y 4 ml de romero a 75%
3. incubación de los tubos en la iarra Gaspak por 24 h. en la estufa a 37°C



1. Placas de agar sangre en estufa para que estén a 37° C
2. rotulación de las placas



1. sembrado de 0.1 de romero con el contaminante en la placa de agar sangre
2. incubación por 24h en la jarra Gaspak
3. conteo en UFC las bacterias encontradas del romero v clorhexidina



Conteo en UFC las bacterias encontradas del romero y clorhexidina las 48 horas

## ANEXO 02: Consentimiento informado

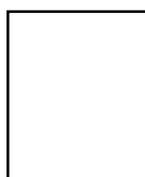
### CONSENTIMIENTO INFORMADO

#### FECHA:

Yo \_\_\_\_\_ de  
edad \_\_\_\_\_, con N° de celular/teléfono: \_\_\_\_\_ autorizo a la bachiller  
de odontología Cynthia Raquel Aguilar García, para ser partícipe de un estudio de  
investigación sobre el **“Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de  
Rosmarinus officinalis (romero) en la desinfección de cepillos dentales”**,  
Teniendo en cuenta que he sido informado claramente sobre los pasos a seguir  
durante dicho procedimiento, el cepillo dental debe ser utilizado por el estudiante  
hasta el día de la entrega ( una semana), me hago responsable de hacer la  
devolución del cepillo dental el día de entrega acordado. A través del presente,  
declaro y manifiesto, en pleno uso de mis facultades mentales, libre y  
espontáneamente y en consecuencia AUTORIZO a la bachiller, lo siguiente: Bajo  
este consentimiento que acordado que no se maneje ni de forma privada ni  
pública información personal dada en este documento. La identidad del paciente  
que se seleccionará en la muestra será de forma confidencial.

\_\_\_\_\_

**FIRMA**



**HUELLA**

### REGISTRO DE CEPILLADO

	L U N E S	M A R T E S	M I E R C O L E S	J U E V E S	V I E R N E S	S A B A D O	D O M I N G O
MAÑANA							
TARDE							
NOCHE							

### RECOLECCIÓN DE DATOS DEL CONTEO UFC

N	ROMERO al 75%		CLORHEXIDINA al 0.12%	
	24 h	48 h	24h	48h
1	5	10	0	0
2	1	3	0	0
3	0	0	0	0
4	3	3	0	0
5	0	0	0	0
6	4	4	0	0
7	0	0	0	0
8	10	14	0	0
9	2	2	0	0
10	4	8	0	0
11	0	2	0	0
12	0	0	0	0
13	2	2	0	0
14	1	1	0	0
15	2	2	0	0
16	0	0	0	0
17	6	7	0	0
18	2	3	0	0
19	0	0	0	0
20	6	8	0	0
21	0	2	0	0
22	0	0	0	0
23	0	0	0	0
24	5	6	0	0
25	6	6	0	0

**ANEXO 03: Constancia de la preparación del extracto etanólico del *Rosmarinus officinalis* (romero) de la facultad de Farmacología de la Universidad Nacional de Trujillo**

**CONSTANCIA**

Yo, MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ, Químico Farmacéutico y docente de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, con registro del CQFP: 06952

Dejo constancia de haber colaborado con la alumna **AGUILAR GARCÍA CYNTHIA RAQUEL**, identificada con DNI 47338781 con domicilio legal en Calle Las fabricas S-2 semirrustica El Bosque; estudiante de la Facultad de Medicina Humana, Escuela Profesional de Estomatología, de la Universidad Privada Antenor Orrego (UPAO), en la en la elaboración del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* del proyecto de investigación “**Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* en la desinfección de cepillos dentales**”

Trujillo 14 de octubre del 2019



  
Dra. MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ  
Docente Investigadora de la Facultad de Farmacia y Bioquímica  
Laboratorio de Farmacognosia  
Universidad Nacional de Trujillo

**ANEXO 04: Carta de autorización al director del centro educativo María Negrón Ugarte**

**Solicito: Autorización para recolección de datos**

Sr: .....  
Director del centro educativo  
María Negrón Ugarte

De mis consideraciones:

Por medio de la presente yo Cynthia Raquel Aguilar García con N° DNI: 47338781 solicito autorización de entrar a las aulas de su centro educativo para la realización de la toma de muestra de mi proyecto de investigación para obtener el título profesional en estomatología, que es titulado “Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) en la desinfección de cepillos dentales”. En dicha investigación participaran 25 sujetos voluntarios del centro educativo María Negrón Ugarte de la ciudad de Trujillo y tendrá duración de una semana.

De antemano agradezco su atención.

Atentamente:

---

Aguilar García Cynthia Raquel  
DNI: 47338781

