



UMA
Universidad
María Auxiliadora

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**EFEECTO ANTIMICROBIANO *in vitro* DEL ACEITE
ESENCIAL DE *Tagetes minuta* SOBRE *Streptococcus
mutans* ATCC 25175 y *Enterococcus faecalis* ATCC
29212.**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO**

AUTORES:

Bach. CHICLOTE MINCHAN; NORMA HILDA

<https://orcid.org/0009-0002-3315-6928>

Bach. ALFARO RUIZ; YANDIRA ELIZABETH

<https://orcid.org/0009-0005-6141-8528>

SESOR:

MSc. CORDOVA SERRANO, GERSON

<https://orcid.org/0000-0002-5591-0322>

LIMA – PERÚ

2024


DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, **Alfaro Ruiz Yandira Elizabeth**, con DNI **46788290** en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico) presentada para optar el presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de QUIMICO FARMACEUTICO (grado o título profesional que corresponda) de título “EFECTO ANTIMICROBIANO in vitro DEL ACEITE ESENCIAL DE Tagetes minuta SOBRE Streptococcus mutans ATCC 25175 y Enterococcus faecalis ATCC 29212”, **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Indicar que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud 6 % y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.

Lima, 2 de enero 2025.



ALFARO RUIZ Yandira Elizabeth

(Nombre y Firma)

Firma del autor:



UNIVERSIDAD MARÍA AUXILIADORA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
MSc. GERSON CORDOVA SERRANO
UDI Investigación Formativa
C.Q.E.P. 16521

Firma del asesor:

MSC. GERSON CORDOVA SERRANO

1. Apellidos y Nombres
2. DNI
3. Grado o título profesional
4. Título del trabajo de Investigación
5. Porcentaje de similitud

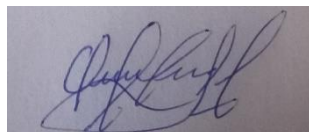
DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo Norma Hilda Chiclote Minchan , con DNI N°46459477 en mi condición de autor(a) de la (tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico), presentada para optar el título profesional de QUÍMICO FARMACÉUTICO ,(grado o título profesional que corresponda) de título " EFECTO ANTIMICROBIANO in vitro DEL ACEITE ESENCIAL DE Tagetes minuta SOBRE Streptococcus mutans ATCC 25175 Y Enterococcus Faecalis " ATCC 29212 , **AUTORIZO** a la universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Indicar que dicho documento es original con un porcentaje de similitud 6 % y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregando la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.

Lima, 14, de Enero 2025






Norma Hilda Chiclote Minchan



firma asesor :
MSC. Gerson Córdova Serrano

CHICLOTE MINCHAN ALFARO RUIZ

APlagio Avance de Tesis metodologia y Resultados , norma y yandira.docx

-  Informes de tesis
-  Taller Titulacion 24 - II
-  FARMACIA Y BIOQUIMICA

Detalles del documento

Identificador de la entrega
trn:oid::1:3044254437

Fecha de entrega
16 oct 2024, 3:58 p.m. GMT-5

Fecha de descarga
16 oct 2024, 4:10 p.m. GMT-5

Nombre de archivo
APlagio_Avance_de_Tesis_metodologia_y_Resultados_norma_y_yandira.docx

Tamaño de archivo
356.0 KB

53 Páginas
12,073 Palabras
66,466 Caracteres



Página 1 of 56 - Portada

Identificador de la entrega trn:oid::1:30442



Página 2 of 56 - Descripción general de Integridad

Identificador de la entrega trn:oid::1:30442


6% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Coincidencias menores (menos de 8 palabras)

Fuentes principales

- 6%  Fuentes de Internet
- 1%  Publicaciones
- 2%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo. Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

DEDICATORIA

A Dios por haber dado fortaleza y la vida para logrado concluir mi carrera, a mi familia por haber sido mi soporte emocional y espiritual a lo largo de estos 5 años de formación profesional. A todas las personas que siempre me motivaron para seguir adelante y creyeron en mí, a mi prima Leonor y todos los que quiero mucho.

Norma Hilda

A Dios por guiarme y darme fortaleza para seguir siempre adelante cumpliendo nuestras metas. A nuestros padres que siempre confiaron en nosotras, darnos su apoyo en todo momento y motivarnos día a día y continuar con nuestros estudios y así concluir satisfactoriamente con esta meta.

Yandira Elizabeth

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer primero a dios porque me dio el don de perseverancia para alcanzar nuestra meta.

Quiero expresar mi profundo agradecimiento a los docentes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad María Auxiliadora

Al Msc. Gerson Córdova Serrano que brindo su asesoría con mucha paciencia y compromiso brindándonos sus conocimientos en investigación y desarrollo de nuestra tesis.

Norma Hilda

A la Universidad María Auxiliadora y a sus directivos, por darnos la oportunidad de formarnos en sus aulas y laboratorios.

A nuestro asesor Msc. Gerson Córdova Serrano que me brindó su asesoría, sus consejos con profesionalismo ético y de este modo lograr concluir con la tesis.

Yandira Elizabeth

RESUMEN

Objetivo: determinar el efecto antimicrobiano in vitro del aceite esencial de *Tagetes minuta* sobre *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*.

Materiales y métodos: se recolectaron 7 kg de hojas de *T. minuta* en Cajamarca, Perú, de las cuales 4 kg fueron destiladas para obtener el aceite esencial. Se utilizó el método de Kirby-Bauer para evaluar la actividad antimicrobiana, variando las concentraciones del aceite. Los datos se analizaron con ANOVA y la prueba HSD de Tukey.

Resultados: el aceite esencial mostró actividad antimicrobiana en ambas bacterias. En *S. mutans*, las zonas de inhibición variaron de 9 a 13 mm a una concentración del 10% y de 16 a 19 mm al 100%. La clorhexidina al 0,12% mostró zonas de inhibición mayores (16 a 22 mm). Para *E. faecalis*, las zonas de inhibición fueron de 6 a 9 mm al 10% y de 14 a 17 mm al 100%, mientras que la clorhexidina presentó zonas de 13 a 16 mm. El etanol, usado como control, no mostró efecto inhibitorio.

Conclusión: el aceite esencial de *Tagetes minuta* demostró actividad antimicrobiana in vitro contra *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*, aunque la clorhexidina fue más efectiva en todas las concentraciones evaluada

Palabras clave: Aceite Esencial, Actividad Antimicrobiana, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Tagetes minuta*. (Fuente: DeCS BIREME)

ABSTRACT

Objective: To determine the in vitro antimicrobial effect of *Tagetes minuta* essential oil on *Streptococcus mutans* and *Enterococcus faecalis*.

Materials and Methods: A total of 7 kg of *T. minuta* leaves were collected in Cajamarca, Peru, of which 4 kg were distilled to obtain the essential oil. The Kirby-Bauer method was used to evaluate the antimicrobial activity, varying the oil concentrations. Data were analyzed using ANOVA and Tukey's HSD test.

Results: The essential oil showed antimicrobial activity against both bacteria. In *S. mutans*, inhibition zones ranged from 9 to 13 mm at a 10% concentration and from 16 to 19 mm at 100%. Chlorhexidine at 0.12% showed larger inhibition zones (16 to 22 mm). For *E. faecalis*, inhibition zones ranged from 6 to 9 mm at 10% and from 14 to 17 mm at 100%, while chlorhexidine presented zones of 13 to 16 mm. Ethanol, used as a control, showed no inhibitory effect.

Conclusion: *Tagetes minuta* essential oil demonstrated in vitro antimicrobial activity against *Streptococcus mutans* and *Enterococcus faecalis*, although chlorhexidine was more effective at all tested concentrations.

Keywords: Essential Oil, Antimicrobial Activity, Enterococcus faecalis, Streptococcus mutans, Tagetes minuta. (Source: DeCS BIREME)

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	7
2.1.	Enfoque y diseño de la investigación.....	7
2.2.	Población, muestra y muestreo.	7
2.3.	Variables de investigación.	8
2.4.	Técnica e instrumentación de recolección de datos	9
2.5.	Plan de recolección de datos	10
2.6.	Análisis estadístico:.....	15
2.7.	Aspectos éticos.....	15
III.	RESULTADOS	16
3.1.	Recolección de droga vegetal.....	16
3.2.	Extracción del aceite esencial:	17
3.3.	Caracterización Físico Química del Aceite esencial de <i>Tagetes minuta</i> . 18	
3.4.	Prueba de solubilidad del Aceite esencial de <i>Tagetes minuta</i>	19
3.5.	Evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de <i>Tagetes minuta</i> por el método de Kirby Bauer.	20
3.6.	Análisis estadístico	25
IV.	DISCUSIÓN	34
4.1.	Discusión de resultados.....	34
4.2.	Conclusiones.....	40
4.3.	Recomendaciones	41

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Información de los datos obtenidos durante la recolección de la droga vegetal	16
Tabla 2. Datos obtenidos durante la extracción del aceite esencial por el método de arrastre de vapor	17
Tabla 3 Caracterización Físico Química del Aceite esencial de <i>Tagetes minuta</i>	18
Tabla 4. Prueba de solubilidad del aceite esencial de <i>Tagetes minuta</i>	19
Tabla 5. Medida en milímetros de los diámetros de Halo de inhibición (mm) del Aceite Esencial sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	20
Tabla 6 Medida en milímetros de los diámetros de Halo de inhibición (mm) del Aceite Esencial sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	21
Tabla 7. Estadísticos descriptivos de los diámetros de los halos de inhibición	22
Tabla 8. Perfil de sensibilidad expresado por <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 a las diferentes concentraciones del aceite esencial.....	23
Tabla 9. Perfil de sensibilidad expresado por <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 a las diferentes concentraciones del aceite esencial.....	24
Tabla 10 Prueba de Normalidad de Shapiro – Wilk aplicada a los diámetros de los halos de inhibición	25
Tabla 11. Análisis de la varianza a un factor de los diámetros de halo para la bacteria <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	26
Tabla 12 Prueba Post hoc de HSD TUKEY de diámetros de halo para la bacteria <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	27
Tabla 13 Subconjuntos obtenidos de la aplicación de las diferentes concentraciones del aceite esencial sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	29
Tabla 14 Análisis de la varianza a un factor de los diámetros de halo producidos frente al control positivo para la bacteria <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212.....	30
Tabla 15 Prueba Post hoc de HSD TUKEY de diámetros de halo para la bacteria <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	31
Tabla 16 Subconjuntos obtenidos de la aplicación de las diferentes concentraciones del aceite esencial sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212.....	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Esquema de la distribución de los pocillos con Aceite esencial de <i>Tagetes minuta</i> y los controles sobre las placas con Agar Müller Hinton suplementado con Sangre.	14
Figura 2. Perfil de sensibilidad expresado por <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 a las diferentes concentraciones del aceite esencial.	23
Figura 3. Perfil de sensibilidad expresado por <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 a las diferentes concentraciones del aceite esencial.	24
Figura 4 Representación gráfica de la distribución normal para los diámetros de halos de inhibición	25

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A Instrumentos de recolección de datos	47
Anexo B Matriz de Operalización de Variables	50
Anexo C Identificación taxonómica especie vegetal <i>Tagetes minuta</i>	50
Anexo D Evidencias fotográficas	52

I. INTRODUCCIÓN

En la cavidad bucal humana existen un conjunto de microorganismos que conforman la denominada microbiota oral, este ecosistema microbiano debe estar en equilibrio para asegurar un adecuado funcionamiento de esta cavidad así como evitar la aparición de enfermedades, como las caries o las afecciones periodontales (1). Este tipo de enfermedades están asociadas a ciertas bacterias como los estreptococos y los enterococos, dichas bacterias se apoyan de mecanismos como la producción de ácido o producción de biofilms, con el objetivo de aumentar su patogenicidad, puesto que estas poblaciones microbianas son susceptibles a las condiciones de la cavidad oral como la presencia de oxígeno, el pH de la saliva, la disponibilidad de nutrientes o los factores inmunológicos. Además, este tipo de infecciones están ligadas a ciertos factores de riesgo en las personas como diabetes, enfermedades cardiovasculares y tumores, por lo que es muy importante controlar este tipo de bacterias patógenas a fin de reducir el riesgo de desarrollar dichas enfermedades (2).

Streptococcus mutans es el principal patógeno cariogénico responsable de la caries dental humana, con una alta capacidad para formar biopelículas. En particular, la caries dental es provocada por la disbiosis de la biopelícula dental adherida a la superficie del esmalte. Esta bacteria productora de ácido coloniza la superficie dental y causan daño a la estructura dental dura en presencia de carbohidratos fermentables(3). Por otro lado, *Enterococcus faecalis* es un coco anaerobio facultativo grampositivo que puede sobrevivir en condiciones adversas. Esta bacteria se puede encontrar con frecuencia en tratamientos de endodoncia fallidos con su capacidad para sobrevivir en un ambiente que carece de nutrientes y en el ambiente dental que es altamente alcalino después del tratamiento con medicamentos intraconducto (4).

Para el año 2019 se reportó que el 90,4% de los peruanos sufren de caries dental y el 85% sufre de enfermedades periodontales, las cuales son causadas por los malos hábitos de higiene bucal e inflamación gingival de origen infeccioso,

representado un problema grave en la salud pública del país, por lo cual es muy importante desarrollar medicamentos y/ tratamientos que reduzcan el riesgo de padecer este tipo de enfermedades, aprovechando el potencial de los recursos biológicos del país (5).

El tratamiento farmacológico de las enfermedades como caries y periodontitis involucran el uso de antibióticos β – Lactámicos y productos antisépticos como la clorhexidina sin embargo el uso de dichos productos origina ciertos inconvenientes, como las reacciones de sensibilidad sobre los tejidos de la cavidad oral, estos tratamientos también afectan al microbiota normal de esta cavidad, además el uso no adecuado de los antibióticos puede originar resistencia bacteriana (6), por esto es importante desarrollar alternativas que puedan dar solución a dichos problemas mediante el aprovechamiento de la diversidad biológica del país.

El género *Tagetes* es utilizado en la agricultura y también posee actividad biológica sobre organismos patógenos de animales, plantas y humanos, siendo un insumo ampliamente utilizado en la medicina tradicional (7). Este tipo de plantas tienen propiedades nematocidas y fungicidas, sus fitoconstituyentes y aceites esenciales se componen de monoterpenos, sesquiterpenos, flavonoides, tiofenos y compuestos aromáticos acíclicos, monocíclicos y bicíclicos. Además es utilizada en la alimentación y también posee usos ornamentales (8).

Los aceites esenciales son un conjunto de compuestos volátiles, de olor intenso e insolubles en el agua, este tipo de compuestos son producidos por diversos géneros vegetales como metabolitos secundarios, en las diferentes estructuras de la planta como las hojas, el pericarpio de algunos cítricos, el tallo, los pétalos entre otros, estos compuestos son responsables de la fragancia de estas plantas y son obtenidos principalmente por la destilación por arrastre de vapor (9). Estos metabolitos son importantes debido a su gran actividad biológica, dado que en la naturaleza cumplen funciones como la protección a insectos y herbívoros, así como regular el estrés hídrico en condiciones de sequía, por otro lado, a nivel de laboratorio, se ha demostrado que poseen actividad biológica in vitro frente a

diversos grupos bacterianos, inhibiendo su crecimiento mediante su interacción con las estructuras bacterianas.

Tomando todo esto en cuenta debemos establecer cuál es el efecto antimicrobiano in vitro del aceite esencial de *Tegetes minuta* sobre *S. mutans* y *E. Faecalis*.

Tagetes minuta o *Huacatay* pertenece a la familia *Asteraceae*, siendo origen de América del Sur y cultivada de manera amplia por sus fitoconstituyentes. Esta planta ha sido utilizada durante mucho tiempo por los pueblos indígenas como hierba medicinal y especia. El *Huacatay* es una planta de carácter aromático anual con brotes leñosos verticales de 1 a 2 metros. La importancia de *T. minuta* se debe a la presencia de aceite esencial en todas las partes de la planta. Esta especie vegetal posee metabolitos activos como los terpenos, sesquiterpenos, flavonoides y tiofeno (10)(11).

Para evaluar el efecto antimicrobiano de un compuesto activo sobre bacterias pueden utilizarse procedimientos como el método de Kirby Bauer, este método se basa en la interacción de los microorganismos en el medio de cultivo con los principios activos por medio de la difusión en pozo, este método es utilizado frecuentemente en las pruebas de susceptibilidad de los microorganismos a diferentes antibióticos en donde se observa zonas con ausencia de crecimiento cercanas al pozo con el antibiótico (halo de inhibición), la aparición de estas zonas puede evidencian la sensibilidad del microorganismo al compuesto en cuestión, es preciso mencionar que para un adecuado análisis se evalúa el diámetro del halo de inhibición. El medio de cultivo utilizado en este método es el agar Müller Hinton (12).

Entre los principales antecedentes internacionales a esta investigación tenemos algunos trabajos como el realizado por Chahrazed B. en 2021 el cual tuvo como objetivo evaluar la interacción del aceite esencial de flor de naranja amarga (*Citrus aurantium L.*) con la bacteria cariogénica *Streptococcus mutans* y las células epiteliales gingivales humanas. Demostrando que pasadas de 24 h de cultivo, se observó la inhibición del crecimiento celular de *S. mutans* incluso a una

concentración baja de aceite esencial. A 0,3 $\mu\text{g}/\text{mL}$, la densidad óptica a 600 nanómetros disminuyó de $0,24 \pm 0,067$ a $0,09 \pm 0,05$. A la concentración más alta (7 $\mu\text{g}/\text{mL}$) este parámetro disminuyó hasta $0,009 \pm 0,008$, lo que confirma el efecto antimicrobiano del aceite esencial (13).

En otras investigaciones como las de Ausama A. en 2020, se evaluó la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Tagetes patula* contra cinco aislamientos bacterianos gramnegativos) y cinco aislados bacterianos grampositivos. Obteniendo como resultado que el aceite esencial de *T. patula* muestra una potente actividad antibacteriana contra las bacterias estudiadas con la mayor inhibición del crecimiento observada en *E. coli* después de 24 h de incubación con una concentración mínima inhibitoria de valor 0.08 $\mu\text{L}/\text{mL}$ y una concentración mínima bactericida de 0.32 $\mu\text{L}/\text{mL}$ (14).

En la publicación de Fatemeh H. de 2020 se estudió los efectos inhibitorios y antibiopelícula *in vitro* e *in vivo* del aceite esencial de orégano en los aislamientos de *Streptococcus mutans* obtenidos de estudiantes de escuela primaria. Como resultado se obtuvo que la frecuencia de *S. mutans* fue del 15,3 %, de los cuales el 87 % eran capaces de formar biopelículas. La CMI del aceite esencial de orégano fue de 50 $\mu\text{l}/\text{ml}$ frente a los aislados de *S. mutans*, y el 82% de los aislados no crecieron a las concentraciones $\geq 512 \mu\text{l}/\text{ml}$ (15).

En relación a los antecedentes nacionales podemos citar a Pure N. del año 2018 el cual tuvo como objetivo determinar el efecto de la concentración del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay) sobre su actividad antimicrobiana frente a cepas ATCC. El resultado mostro que el aceite esencial en concentraciones al 100%, 75%, 50% y 25% presentaron actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* ATCC 8739 mostrando halos de inhibición con un promedio de 19.22 mm, 17.14 mm, 16.49 mm y 12.44 mm y frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 con promedios de 27.29 mm, 24.82 mm, 22.18 mm y 14.73 mm, respectivamente (16).

Además, tenemos investigaciones realizadas por Cordero M. en 2019 la cual tuvo como objetivo evaluar la actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Tagetes Minuta* (huacatay) en cepas de *Pseudomona aeruginosa*. Dicha investigación reveló que este extracto etanólico presenta sensibilidad baja a una concentración de 20 mg/ml, a 50 mg/ml sensibilidad media y a 80 mg/ml presenta sensibilidad alta, sobre *Pseudomonas aeruginosa* (17).

Investigaciones como las de Manuelo M. de 2020 buscó evaluar el efecto antimicótico del ungüento a base del aceite esencial de *Tagetes minuta L.* “Huacatay” provocadas por *Cándida albicans* en ratas albinas. Como resultado se pudo determinar que el ungüento a base del aceite esencial de *Tagetes minuta L.* “Huacatay” presenta considerable efecto antimicótico frente a *Cándida albicans* en lesión cutánea, debido a que al 3 y 6 % produce disminución en la formación de colonias según los días de tratamiento (18).

La importancia de este estudio radica en encontrar alternativas a los tratamientos convencionales contra los patógenos que originan las enfermedades dentales como las caries, y explorar el potencial de los aceites esenciales como una opción terapéutica. Los tratamientos deben poseer la misma efectividad que los tratamientos tradicionales, pero con la característica diferencial de reducir los inconvenientes de dichos tratamientos, como efectos secundarios y resistencia a los antibióticos. Los aceites esenciales al ser una fuente prometedora de compuestos antimicrobianos naturales pueden ser utilizados en el tratamiento de enfermedades dentales y mejorar la salud bucal en general.

El objetivo general de este estudio es determinar cuál es el efecto antimicrobiano *in vitro* del aceite esencial de *Tagetes minuta* sobre *S. mutans* y *E. Faecalis*. Para alcanzar este objetivo se deben reactivar cepas bacterianas de *S. mutans* y *E. Faecalis*., además se debe extraer el aceite esencial de *Tagetes minuta* por arrastre de vapor y por último se debe evaluar el efecto de las diferentes concentraciones del aceite esencial de *Tagetes minuta* sobre el crecimiento de células bacterianas *S. mutans* y *E. Faecalis*.

Hipótesis general de estudio: El aceite esencial de *Tagetes minuta* tiene efecto antimicrobiano *in vitro* sobre el crecimiento de células bacterianas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Enfoque y diseño de la investigación.

Esta investigación posee un enfoque cuantitativo puesto que se recolectaron datos cuantitativos continuos (diámetro de halo de inhibición en mm), los cuales fueron analizados por pruebas estadísticas para verificar la hipótesis de investigación (19) . Además este estudio cuenta con un diseño experimental dado que se manipuló la variable independiente, mediante la variación en la concentración del aceite esencial para determinar si existe modificación del efecto antimicrobiano en función de la concentración utilizada. El método utilizado en este estudio es inductivo – deductivo, dado que se observó empíricamente la interacción particular de las variables, permitiendo obtener conclusiones generales del estudio. El presente estudio es de tipo explicativo ya que busca explicar las causas que dan lugar al efecto antimicrobiano originado de la interacción dada entre las variables de la investigación.

2.2. Población, muestra y muestreo.

1.2.1 Población y muestra botánica:

La población del presente estudio estuvo conformada por 7 Kilogramos de hojas de *Tagetes minuta*, los cuales fueron recolectados en el Centro Poblado Paccha Chica Baja, distrito de Cajamarca, provincia de Cajamarca, departamento de Cajamarca, Perú, ubicado a 2720 msnm, latitud de 7° 11' 39.19" S y longitud de 78° 29' 41.84" W.

Se realizó un muestreo no probabilístico intencional, para lo cual se aplicaron los criterios de inclusión y exclusión, seleccionando un total de 4 Kg de hojas de *Tagetes Minuta*, para su uso en la presente investigación.

Criterios de Inclusión:

Material vegetal que pertenezca a la especie vegetal *Tagetes minuta*.

Partes aéreas de la planta (hojas)

Hojas Maduras y diferenciadas.

Criterios de Exclusión:

Material vegetal con señales de daño ambiental.

Material vegetal con señales de daño por fitopatógenos como picaduras de insectos y/o presencia de daño por hongos.

1.2.2 Población y muestra microbiológica:

Estuvo conformada por Cepas de Referencia de las bacterias *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, adquiridas por medio del Laboratorio Genlab.

Criterios de Inclusión:

Cepas de referencia ATCC utilizadas en ensayos de evaluación del efecto antimicrobiano, morfología característica de las colonias de *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*

Criterios de Exclusión:

Presencia de contaminantes microbiológicos durante la fase de reactivación de las cepas ATCC.

2.3. Variables de investigación.

Variable independiente:

Aceite esencial de *Tagetes minuta*.

Definición conceptual:

El aceite esencial es una mezclas complejas de compuestos volátiles producidos por plantas aromáticas como *Tagetes minuta* (20).

Definición operacional:

Obtención por medio de extracción por arrastre de vapor asistido por Clevenger, para la extracción del aceite esencial (21)

Variable dependiente:

Efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Tagetes minuta* sobre *Streptococcus Mutans* y *Enterococcus Faecalis*

Definición conceptual:

Inhibición del crecimiento de *Streptococcus Mutans* y *Enterococcus Faecalis* originado por la aplicación del aceite esencial (22).

Definición operacional:

Metodología Kirby Bauer por medio de la evaluación de la medida de los halos de inhibición de crecimiento de *Streptococcus Mutans* y *Enterococcus Faecalis* (22).

2.4. Técnica e instrumentación de recolección de datos

La técnica utilizada en el presente estudio es la observacional (23). El instrumento utilizado, fue la guía de observación, ficha de datos en la cual se anotaron las medidas de los halos obtenidos durante la prueba de efecto antimicrobiano, se utilizó lista de cotejo y escala de estimaciones para la prueba de solubilidad.

La recolección de datos microbiológicos se utilizó el método Kirby Bauer, para lo cual se sembraron las bacterias por agotamiento en el medio de cultivo Agar Müller Hinton suplementado con sangre, posteriormente se excavaron pocillos en el agar para colocar las concentraciones de aceite esencial y los controles, luego de la incubación se observó la presencia de halos de inhibición, los cuales fueron medidos haciendo uso de una regla. Finalmente, los datos obtenidos fueron ingresados a una base de datos en el Software Excel 2021 (Licencia de Prueba) y analizados en los softwares SPSS 23 (Statistical Package for Social Sciences) y Minitab Versión 22.

2.5. Plan de recolección de datos

2.5.1 Recolección de droga vegetal.

La recolección de la Droga Vegetal perteneciente a la planta *Tagetes Minuta* se realizó durante el mes de agosto que corresponde a la época de lluvia se recolectaron un total de 7 kilogramos de material vegetal el Centro Poblado Paccha Chica Baja, distrito de Cajamarca, provincia de Cajamarca, departamento de Cajamarca, Perú, a continuación, se seleccionaron las hojas que no presentaron señales de deterioro ni daño causado por fitopatógenos o factores ambientales (24).

2.5.2 Identificación Taxonómica del material Vegetal Recolectado.

La identificación Taxonómica del material recolectado fue realizada en las instalaciones del Herbario Institucional de la Universidad Nacional de Cajamarca, para lo cual se transportaron 3 ejemplares en prensa botánica para su identificación, los cuales fueron previamente seleccionados, priorizando los ejemplares más desarrollados y en mejor estado de conservación, se determinaron los siguientes Taxones, Reino, División, Clase, Orden, Familia, Género y Especie.

2.5.3 Extracción del aceite esencial:

La extracción del aceite esencial de *Tagetes minuta* se realizó mediante destilación por arrastre de vapor, para esto se pesaron 500 gr el material vegetal previamente escogido, luego fue colocado cuidadosamente en la recamará superior del sistema de extracción Clevenger, en la cámara inferior se vertió 1 litro de agua destilada, todas las juntas del equipo fueron engrasadas con vaselina y se aseguraron con abrazaderas de plástico, la destilación se inició al encender la fuente de calor (24).

Se realizaron un total de 8 destilaciones, hasta procesar los 4 kg de material vegetal seleccionado, para lo cual se deja enfriar el sistema y se vuelve a cargar el material vegetal en la recamara del equipo,

cada destilación tuvo una duración de 2 horas y se dejó enfriar el equipo por aproximadamente 30 minutos.

Al finalizar cada extracción el producto obtenido se recolecto y trasvaso a un embudo de decantación, el cual permitió la separación del hidrolato y el aceite esencial por medio de diferencia de densidad. Culminada la separación de fases se procedió a la decantación del hidrolato y el aceite esencial obtenido se conservó en un frasco ámbar hermético y se almaceno en condiciones de refrigeración (2° – 8°) hasta su uso en los ensayos de efecto antimicrobiano.

Para calcular el rendimiento de extracción se utilizó la siguiente expresión (24):

$$R\% = \frac{M_{(ae)}}{M_{(mv)}} \times 100$$

Donde:

R%= Porcentaje de Rendimiento

M_(ae)= Masa del aceite esencial extraído en Gramos

M_(mv)= Masa total del material vegetal utilizado en la extracción en Gramos

2.5.4 Caracterización Físico Química del Aceite esencial de *Tagetes minuta*.

Finalizada la extracción se determinaron las siguientes características fisicoquímicas del aceite esencial de *Tagetes minuta*.

- **Índice de Refracción:** Se tomaron 0,6 mL de aceite esencial y se colocaron sobre el prisma del refractómetro, luego se realizó la medición a contraluz.
- **Olor:** Se agrego 0,5 mL del aceite esencial, a un vaso de precipitación para determinar su olor.
- **Color:** Se agrego 0,5 mL del aceite esencial, a una placa de Petri y haciendo contraste con una hoja blanca se determinó el color.
- **Sabor:** Con una espátula limpia y desinfectada se tomó una muestra de la superficie del aceite y se determinó el sabor

- **Densidad:** Con ayuda de una micropipeta se tomó una alícuota de 1 mL y se vertió en un crio vial previamente pesado y tarado en una balanza analítica. La densidad se obtuvo dividiendo la masa obtenida entre el volumen medido.
- **Textura:** Con una espátula limpia se evaluó la textura de 0.5 mL de aceite esencial sobre una placa de Petri limpia.

2.5.5 Prueba de solubilidad del Aceite esencial de *Tagetes minuta*

Para determinar la solubilidad del aceite esencial se tomaron 0.5 ml de aceite esencial y se colocaron en 6 tubos de ensayo, los cuales contenían 5 ml de los disolventes seleccionados para esta prueba (agua, etanol 96°, alcohol Isopropílico, cloroformo y éter de petróleo) los tubos fueron agitados manualmente, se anotaron todos los cambios que se observaron en la ficha de recolección de datos.

2.5.6 Reactivación de Cepas de Referencia *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

El proceso de reactivación de las cepas ATCC, fue realizado siguiendo las indicaciones de microbiologics utilizando medios microbiológicos indicados para el crecimiento de *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis* (25) .

Para *S. mutans* se utilizó caldo BHI (Caldo Infusión Cerebro Corazón) previamente preparado y esterilizado en autoclave a 121 °C y 1,5 Atm, luego los tubos inoculados se llevaron a incubación a 37° durante 48 horas (25).

Para *E. faecalis* se utilizó caldo tripticasa de soya previamente preparado y esterilizado en autoclave a 121 °C y 1,5 Atm y el medio luego fue suplementado con 5% de sangre desfibrinada, una vez inoculado se llevó a incubación a 37° durante 48 horas (25).

2.5.7 Evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Tagetes minuta* por el método de Kirby Bauer.

La evaluación de la actividad antimicrobiana in vitro del aceite esencial de *Tagetes minuta* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, fue realizada por el método de Kirby Bauer (26).

Para iniciar el ensayo se procedió a preparar 3 concentraciones (10%, 25%, 50%) del aceite esencial a partir del aceite extraído y como solvente de dilución alcohol etílico de 96 °, para esto se aplicó la siguiente expresión:

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

Donde:

C_1 = Concentración inicial del aceite esencial puro (100%)

V_1 = Volumen inicial del aceite esencial puro

C_2 = Concentración final del aceite esencial a preparar (10%,25%,50%)

V_2 = Volumen final del aceite esencial a preparar

Una vez obtenidas las 3 concentraciones, se sellaron los tubos de ensayo y se procedió a realizar la preparación del medio de cultivo para el antibiograma.

Se preparo Agar Müller Hinton, según las instrucciones del fabricante (Difco), el cual fue esterilizado por autoclave a 121 °C y 1,5 atm; debido a los requerimientos nutricionales de las bacterias de este trabajo, el medio fue suplementado con 5% sangre para un adecuado crecimiento (27).

A partir de un cultivo joven (18 - 24 horas), se preparó suspensiones bacterianas de cada bacteria, para ajustar la turbidez del inóculo se utilizó un espectrofotómetro UV- VIS, el cual fue configurado con una longitud de onda de 595 nm, siendo 0,1 el valor final de absorbancia que se fijó para los inóculos. Luego se procedió a sembrar por agotamiento en las placas con el medio de cultivo con ayuda de hisopos estériles.

Una vez completada la siembra, se realizaron pocillos excavados y se añadieron 20 μ L de las 4 concentraciones de aceite esencial establecidas para este estudio (10%, 25%, 50% y 100%). Como control negativo, se utilizó alcohol al 96%, y como control positivo, clorhexidina al 0.12%. En condiciones de esterilidad, estos controles se distribuyeron sobre las placas previamente sembradas con las suspensiones bacterianas (Figura 1). Cada microorganismo se sembró en 10 repeticiones.

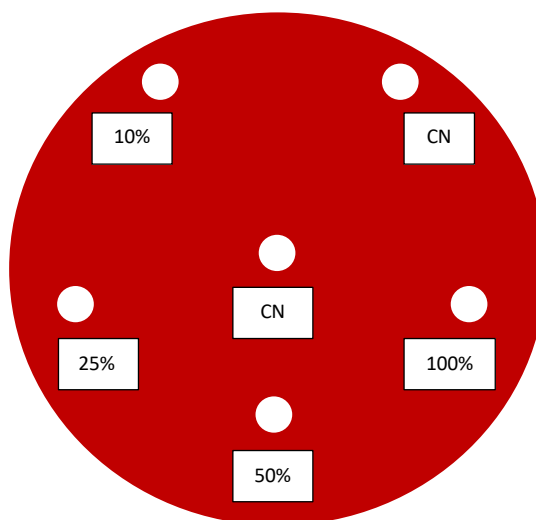


Figura 1 Esquema de la distribución de los pocillos con Aceite esencial de *Tagetes minuta* y los controles sobre las placas con Agar Müller Hinton suplementado con Sangre.

Finalmente las placas sembradas se llevaron a incubación por 24 horas a 37 °C, en una incubadora microbiológica

Pasado el tiempo de incubación se procedió a verificar el crecimiento y medir los halos de inhibición formados alrededor de los pocillos que contenían las concentraciones del aceite esencial y los respectivos controles. Los datos obtenidos se apuntaron en la ficha de datos diseñada para este procedimiento.

Se empleó la escala de Duraffourd para determinar la sensibilidad bacteriana al efecto inhibitorio del aceite esencial. Esta escala permite clasificar el grado de sensibilidad en función del diámetro de la zona de inhibición alrededor del pocillo que contenía el aceite

esencial: una zona de diámetro menor a 9 mm será considerada como nula (-), entre 9 y 13 mm como sensible (+), entre 14 y 19 mm como muy sensible (++) y mayor a 19 mm como sumamente sensible (S.S.= +++). Este análisis se realizará en triplicado para cada concentración del aceite esencial y se utilizará como control positivo clorhexidina y como control negativo son solución etanol 96% (27)

2.6. Análisis estadístico:

A partir del diámetro de los halos de inhibición, se calculó la media y las medidas de dispersión (desviación estándar y varianza) (28). Para dar inicio a las pruebas de contrastación de hipótesis se aplicó la prueba de Shapiro - Wilk la cual nos permitió evaluar si los datos obtenidos siguen una distribución normal.

Los datos obtuvieron un P valor mayor al 0.05 de significancia por lo que fueron considerados como datos Normales, por lo tanto se le aplicó la prueba paramétrica de ANOVA a un factor, seguido de una prueba de HSD de Tukey.

Las pruebas fueron seleccionadas, considerando los supuestos previos para su aplicación y precisión.

2.7. Aspectos éticos

Durante el desarrollo de este trabajo se aplicaron medidas de bioseguridad y además se siguieron las buenas prácticas de laboratorio para garantizar la seguridad de los investigadores, debido a la manipulación de microorganismos que podrían ser potencialmente patógenos. Asimismo, se prestó especial atención durante la recolección del material vegetal para preservar el medio ambiente y minimizar el impacto en el ecosistema.

III. RESULTADOS

3.1. Recolección de droga vegetal.

Tabla 1. Información de los datos obtenidos durante la recolección de la droga vegetal

Zona	Cantidad	Coordenadas	Altitud
Paccha chica/ Cajamarca /	7 kg	7° 11' 39.19" S	2720
Cajamarca / Cajamarca		78° 29' 41.84" W	msnm

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 1 se observa la ubicación geográfica y altitud en donde se realizó la recolección de *Tagetes minuta*.

3.2. Extracción del aceite esencial:

Tabla 2. Datos obtenidos durante la extracción del aceite esencial por el método de arrastre de vapor

Planta	Cantidad	Volumen obtenido	Masa
<i>Tagetes minuta</i>	5 kg	9,7 mL	8,63 g

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 3 se observa el volumen y la masa de aceite obtenido durante la extracción de aceite esencial de *Tagetes minuta* que corresponden a los 5 Kg de material vegetal utilizado durante la extracción. Con estos datos se calculó el rendimiento de aceite esencial obteniendo un rendimiento de extracción de 0,21%.

3.3. Caracterización Físico Química del Aceite esencial de *Tagetes minuta*.

Tabla 3 Caracterización Físico Química del Aceite esencial de *Tagetes minuta*

Caracterización Físico Química			
Índice de Refracción	1,46	Sabor	Herbáceo/ Intenso
Olor	<i>Sui Generis</i>	Densidad	0,89 g/ml
Color	Amarillo	Textura	Oleosa

Fuente: Elaboración propia

El aceite tiene un índice de refracción de 1.46, lo que indica cómo interactúa con la luz, estos valores indican que el aceite posee una alta pureza. Su sabor es herbáceo e intenso, sugiriendo un perfil de sabor fuerte y vegetal. El olor es *sui generis*, lo que implica que tiene un aroma distintivo y característico. La densidad del aceite es de 0.89 g/ml, siendo menor a la del agua lo que permite su separación. Su color es amarillo y presenta una textura oleosa, reflejando una consistencia aceitosa.

3.4. Prueba de solubilidad del Aceite esencial de *Tagetes minuta*

Tabla 4. Prueba de solubilidad del aceite esencial de *Tagetes minuta*

Prueba de solubilidad			
Solvente	Resultado	Solvente	Resultado
Agua	-	Cloroformo	+++
Etanol 96°	++	Éter De Petróleo	+++
Alcohol Isopropílico	++		

Fuente: Elaboración propia

Donde:

- (-) = insoluble
- (+) = poco soluble
- (++) = soluble
- (+++) = muy soluble

En la tabla 5 se observa que el aceite esencial es insoluble en agua y tiene una mayor afinidad por solventes apolares como el cloroformo o el éter de petróleo, en etanol de 96° la solubilidad es moderada.

3.5. Evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Tagetes minuta* por el método de Kirby Bauer.

Tabla 5. Medida en milímetros de los diámetros de Halo de inhibición (mm) del Aceite Esencial sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Diámetros de Halo de inhibición (mm) de AE sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175					
AE 10 %	AE 25 %	AE 50 %	AE 100 %	CP (CHX 0,12%)	CN C ₂ H ₅ OH
10	12	14	17	18	0
10	14	14	18	18	0
10	13	14	16	16	0
9	12	13	18	22	0
9	11	12	19	19	0
11	12	14	16	20	0
13	12	15	18	17	0
11	13	14	17	17	0
9	11	13	16	18	0
12	13	15	18	18	0

Fuente: Elaboración propia

La tabla 7 muestra los diámetros de los halos de inhibición en milímetros del aceite esencial sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a diferentes concentraciones: 10%, 25%, 50% y 100%. A medida que aumenta la concentración del aceite esencial, los diámetros de los halos también incrementan, indicando una mayor efectividad antimicrobiana. Por ejemplo, en la concentración del 10%, los diámetros varían entre 9 y 13 mm, mientras que en la concentración del 100%, los diámetros se encuentran entre 16 y 19 mm.

El control positivo, clorhexidina al 0,12%, muestra consistentemente los diámetros más altos, entre 16 y 22 mm, lo que indica una mayor efectividad que el aceite esencial, incluso en su concentración más alta. El control negativo, etanol, no presenta halos de inhibición, confirmando que no tiene actividad antimicrobiana y que los efectos observados se deben exclusivamente al aceite esencial.

Tabla 6 Medida en milímetros de los diámetros de Halo de inhibición (mm) del Aceite Esencial sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

Diámetro de Halo de inhibición (mm) de AE sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212					
AE 10 %	AE 25 %	AE 50 %	AE 100 %	CP (CHX 0,12%)	CN C ₂ H ₅ OH
8	10	12	16	13	0
9	12	12	14	14	0
7	9	13	16	15	0
6	11	12	14	16	0
7	10	11	14	13	0
8	9	13	17	14	0
7	12	12	15	15	0
7	9	12	15	14	0
9	10	13	17	15	0
8	11	14	16	16	0

Fuente: Elaboración propia

La tabla 8 presenta los diámetros de los halos de inhibición en milímetros del aceite esencial sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, evaluados a las mismas concentraciones del aceite: 10%, 25%, 50%, y 100%. Similar a la tabla anterior, también se incluyen un control positivo (clorhexidina al 0,12%) y un control negativo (etanol). En *Enterococcus faecalis*, los diámetros de los halos de inhibición aumentan con la concentración del aceite esencial, pero los valores son generalmente menores en comparación con los observados en *Streptococcus mutans*. En la concentración del 10%, los diámetros varían entre 6 y 9 mm, y a la concentración del 100%, los valores van de 14 a 17 mm. Esto indica que el aceite esencial es menos efectivo contra *Enterococcus faecalis* que contra *Streptococcus mutans*, donde los halos a la concentración del 100% alcanzaron entre 16 y 19 mm. El control positivo (clorhexidina 0,12%) muestra halos de inhibición en *Enterococcus faecalis* de entre 13 y 16 mm, lo cual es inferior a los resultados obtenidos con *Streptococcus mutans*, donde los halos fueron consistentemente mayores (16 a 22 mm). Esto sugiere que *Enterococcus faecalis* es menos susceptible a la clorhexidina que *Streptococcus mutans*. El control negativo (etanol) no presenta halos de inhibición en ninguna de las bacterias, confirmando nuevamente la ausencia de actividad antimicrobiana del solvente.

Tabla 7. Estadísticos descriptivos de los diámetros de los halos de inhibición

Estadísticos descriptivos				
	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
AE 10% <i>Streptococcus mutans</i>	9,0	13,0	10,4	1,3
AE 25 % <i>Streptococcus mutans</i>	11,0	14,0	12,3	0,9
AE 50 % <i>Streptococcus mutans</i>	12,0	15,0	13,8	0,9
AE 100 % <i>Streptococcus mutans</i>	16,0	19,0	17,3	1,1
CP CHX <i>Streptococcus mutans</i>	16,0	22,0	18,3	1,7
AE 10 % <i>Enterococcus Faecalis</i>	6,0	9,0	7,6	1,0
AE 25 % <i>Enterococcus Faecalis</i>	9,0	12,0	10,3	1,2
AE 50 % <i>Enterococcus Faecalis</i>	11,0	14,0	12,4	0,8
AE 100 % <i>Enterococcus Faecalis</i>	14,0	17,0	15,4	1,2
CP CHX <i>Enterococcus Faecalis</i>	13,0	16,0	14,5	1,1

Fuente: Elaboración propia

El control negativo de etanol de 96 °, no presento halos de inhibición por lo que se puede asumir que su uso como solvente para la preparación de las diferentes concentraciones de aceite esencial no influyó en la formación de halos de inhibición del crecimiento para ambos microorganismos.

Por otro lado el control positivo presento halos de inhibición en todas las placas de ambos microorganismos por lo que se constituye como una referencia adecuada para la comparación de la actividad antimicrobiana de las diferentes concentraciones de aceite esencial.

Tabla 8. Perfil de sensibilidad expresado por *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las diferentes concentraciones del aceite esencial.

Perfil de Sensibilidad de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 al AE					
	AE 10%	AE 25%	AE 50%	AE 100%	CP
Sensibilidad Nula (-)	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Sensible (+)	10/10	9/10	3/10	0/10	0/10
Muy Sensible (++)	0/10	1/10	7/10	10/10	7/10
Sumamente Sensible (+++)	0/10	0/10	0/10	0/10	3/10

Fuente: Elaboración propia

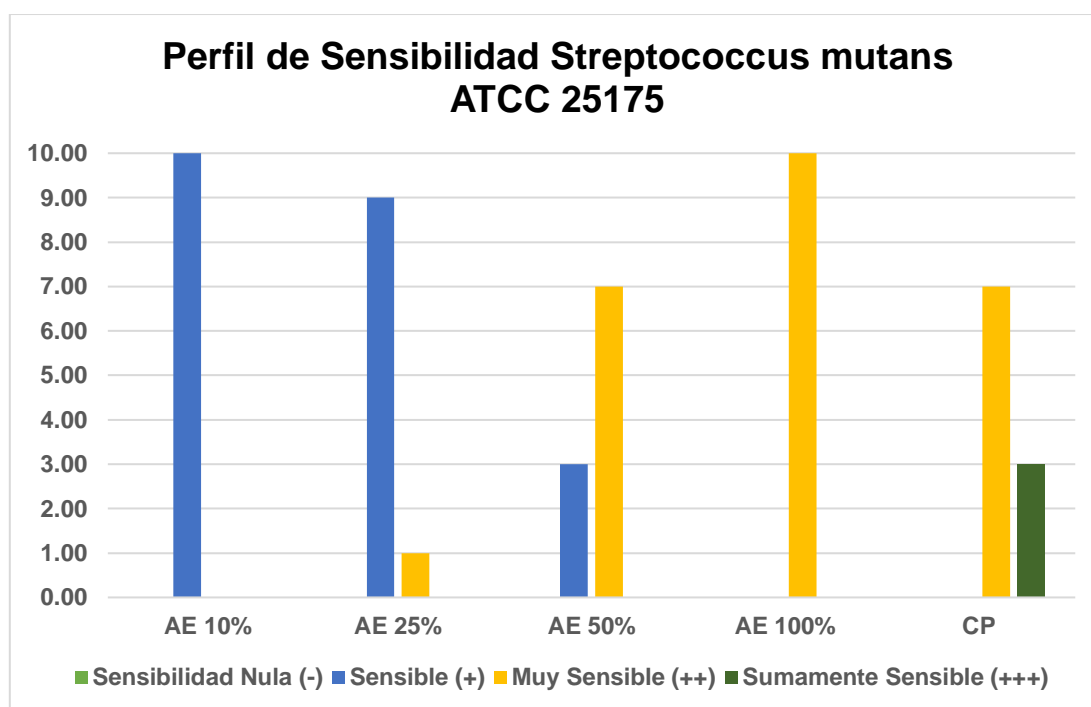


Figura 2. Perfil de sensibilidad expresado por *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las diferentes concentraciones del aceite esencial.

En la Tabla 8 se observa que , todas las concentraciones utilizadas presentan efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans* siendo la concentración de 100 %, la que posee mayor efecto inhibitorio, ya que se observó que todas las repeticiones tienen un diámetro mayor a 16 mm, que ubicado en la escala de Duraffourd corresponde a un nivel catalogado como Muy Sensible (+ + +). Solo la concentración del 10% tuvo halos comprendidos entre 9 mm y 13 mm por lo que según Duraffourd su nivel de sensibilidad es el más bajo para esta escala. Las otras dos concentraciones presentaron en 1 y 7 de las repeticiones un nivel Muy Sensible (+ + +).

Tabla 9. Perfil de sensibilidad expresado por *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 a las diferentes concentraciones del aceite esencial.

Perfil de Sensibilidad de <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 al AE					
	AE 10%	AE 25%	AE 50%	AE 100%	CP
Sensibilidad Nula (-)	4/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Sensible (+)	5/10	10/10	9/10	0/10	2/10
Muy Sensible (++)	1/10	0/10	1/10	10/10	8/10
Sumamente Sensible (+++)	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10

Fuente: Elaboración propia

El perfil de sensibilidad de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 frente al AE y el CP muestra lo siguiente:

Para el AE a baja concentración, 4 de 10 muestras no muestran sensibilidad, 5 de 10 son sensibles, 1 de 10 es muy sensible, y ninguna muestra es sumamente sensible. Con el AE a concentración media-baja, ninguna muestra sensibilidad nula, 10 de 10 son sensibles, y no hay casos de alta sensibilidad (+ + +). A concentración media-alta, 9 de 10 muestras son sensibles, 1 de 10 es muy sensible, y ninguna muestra es sumamente sensible. Con el AE a concentración máxima, todas las muestras (10 de 10) son muy sensibles, sin casos de sensibilidad básica ni extrema. El control positivo (CP) muestra que 2 de 10 muestras son sensibles, 8 de 10 son muy sensibles y ninguna es sumamente sensible.

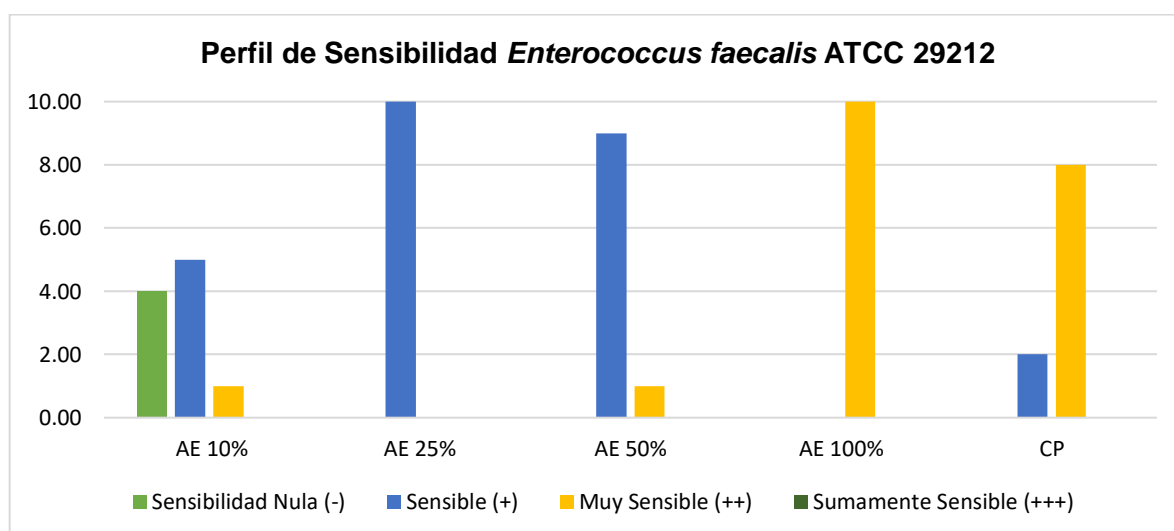


Figura 3. Perfil de sensibilidad expresado por *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 a las diferentes concentraciones del aceite esencial.

3.6. Análisis estadístico

Tabla 10 Prueba de Normalidad de Shapiro – Wilk aplicada a los diámetros de los halos de inhibición

Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk			
	Estadístico	gl	Sig.
Aceite Esencial 10 % Streptococcus mutans	0,90	10,00	0,20
Aceite Esencial 25 % Streptococcus mutans	0,91	10,00	0,29
Aceite Esencial 50 % Streptococcus mutans	0,88	10,00	0,15
Aceite Esencial 100 % Streptococcus mutans	0,87	10,00	0,11
Control Positivo CHX Streptococcus mutans	0,90	10,00	0,24
Aceite Esencial 10 % Enterococcus Faecalis	0,90	10,00	0,24
Aceite Esencial 25 % Enterococcus Faecalis	0,88	10,00	0,12
Aceite Esencial 50 % Enterococcus Faecalis	0,89	10,00	0,17
Aceite Esencial 100 % Enterococcus Faecalis	0,88	10,00	0,12
Control Positivo CHX Enterococcus Faecalis	0,91	10,00	0,26

La prueba de Normalidad (Tabla 12) evidencio que todos los datos analizados siguen una distribución normal, puesto que el P valor es mayor a 0,05 en todos los casos, por lo que para la comparación de medias se aplicará ANOVA.

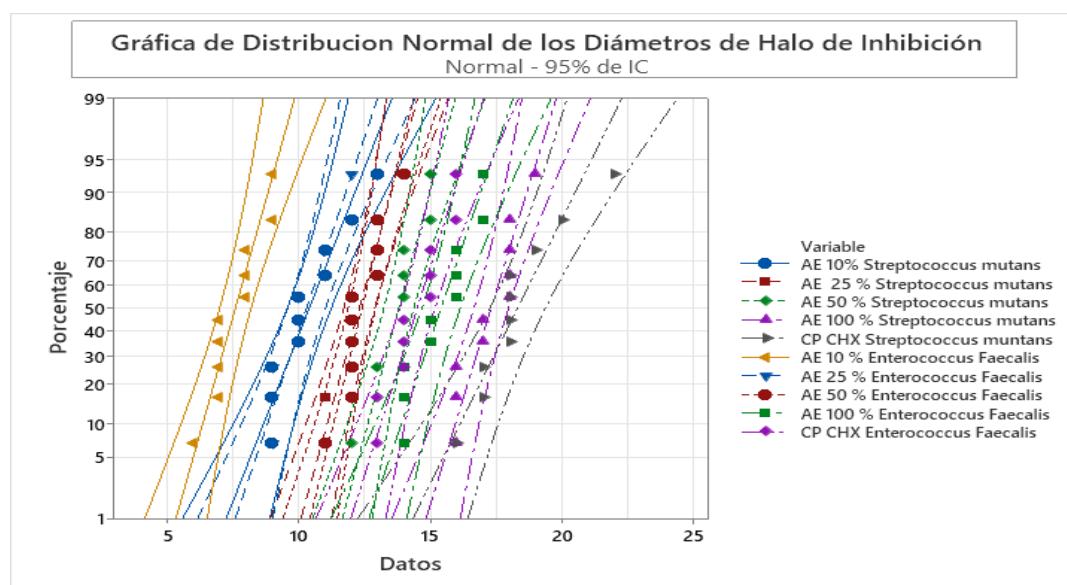


Figura 4 Representación gráfica de la distribución normal para los diámetros de halos de inhibición

Tabla 11. Análisis de la varianza a un factor de los diámetros de halo para la bacteria *Streptococcus mutans* ATCC 25175

ANOVA					
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2176,7	5,0	435,3	344,2	0,0
Dentro de grupos	68,3	54,0	1,3		
Total	2245,0	59,0			

El valor p en el análisis de varianza (ANOVA) para *Streptococcus mutans* ATCC 25175 es 0,0 lo que indica que existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los grupos. Esto sugiere que al menos uno de los grupos es significativamente diferente de los otros. Para identificar específicamente cuáles grupos difieren entre sí, se realizó una prueba de Tukey, que ayuda a determinar los subconjuntos homogéneos y a identificar las diferencias entre los grupos de manera más detallada.

Tabla 12 Prueba Post hoc de HSD TUKEY de diámetros de halo para la bacteria *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Comparaciones múltiples HSD Tukey						
Tratamiento		Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Aceite Esencial 10 %	Aceite Esencial 25 %	-1,9	0,50	0,01	-3,39	-0,41
	Aceite Esencial 50 %	-3,4	0,50	0,00	-4,89	-1,91
	Aceite Esencial 100 %	-6,9	0,50	0,00	-8,39	-5,41
	Control Negativo	10,4	0,50	0,00	8,91	11,89
	Control Positivo (Clorhexidina)	-7,9	0,50	0,00	-9,39	-6,41
Aceite Esencial 25 %	Aceite Esencial 10 %	1,9	0,50	0,01	0,41	3,39
	Aceite Esencial 50 %	-1,5	0,50	0,05	-2,99	-0,01
	Aceite Esencial 100 %	-5	0,50	0,00	-6,49	-3,51
	Control Negativo	12,3	0,50	0,00	10,81	13,79
	Control Positivo (Clorhexidina)	-6	0,50	0,00	-7,49	-4,51
Aceite Esencial 50 %	Aceite Esencial 10 %	3,4	0,50	0,00	1,91	4,89
	Aceite Esencial 25 %	1,5	0,50	0,05	0,01	2,99
	Aceite Esencial 100 %	-3,5	0,50	0,00	-4,99	-2,01
	Control Negativo	13,8	0,50	0,00	12,31	15,29
	Control Positivo (Clorhexidina)	-4,5	0,50	0,00	-5,99	-3,01
Aceite Esencial 100 %	Aceite Esencial 10 %	6,9	0,50	0,00	5,41	8,39
	Aceite Esencial 25 %	5	0,50	0,00	3,51	6,49
	Aceite Esencial 50 %	3,5	0,50	0,00	2,01	4,99
	Control Negativo	17,3	0,50	0,00	15,81	18,79
	Control Positivo (Clorhexidina)	-1	0,50	0,36	-2,49	0,49
Control Negativo	Aceite Esencial 10 %	-10,4	0,50	0,00	-11,89	-8,91
	Aceite Esencial 25 %	-12,3	0,50	0,00	-13,79	-10,81
	Aceite Esencial 50 %	-13,8	0,50	0,00	-15,29	-12,31
	Aceite Esencial 100 %	-17,3	0,50	0,00	-18,79	-15,81
	Control Positivo (Clorhexidina)	-18,3	0,50	0,00	-19,79	-16,81
Control Positivo (CHX)	Aceite Esencial 10 %	7,9	0,50	0,00	6,41	9,39
	Aceite Esencial 25 %	6	0,50	0,00	4,51	7,49
	Aceite Esencial 50 %	4,5	0,50	0,00	3,01	5,99
	Aceite Esencial 100 %	1,0	0,50	0,36	-0,49	2,49
	Control Negativo	18,3	0,5030	0,000	16,814	19,786

Los resultados de la prueba de comparaciones múltiples HSD Tukey muestran las diferencias significativas entre los tratamientos. El Aceite Esencial al 10% es significativamente menos efectivo en comparación con las concentraciones del 25%, 50% y 100% del Aceite Esencial, así como con el Control Positivo (Clorhexidina). El Aceite Esencial al 25% es más efectivo que el Aceite Esencial al 10%, pero menos efectivo que el Aceite Esencial al 50% y al 100%. También es más efectivo que el Control Negativo y el Control Positivo (Clorhexidina). El Aceite Esencial al 50% es más efectivo que el Aceite Esencial al 10% y al 25%, pero menos efectivo que el Aceite Esencial al 100%. Además, es más efectivo que el Control Negativo y el Control Positivo (Clorhexidina). El Aceite Esencial al 100% muestra la mayor efectividad, siendo significativamente más efectivo que el Aceite Esencial al 10%, al 25% y al 50%.

Tabla 13 Subconjuntos obtenidos de la aplicación de las diferentes concentraciones del aceite esencial sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Subconjuntos Homogéneos						
HSD Tukey						
Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Control Negativo	10	0,000				
Aceite Esencial 10 %	10		10,400			
Aceite Esencial 25 %	10			12,300		
Aceite Esencial 50 %	10				13,800	
Aceite Esencial 100 %	10					17,300
Control Positivo (Clorhexidina)	10					18,300
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	0,362

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 13 se muestran los subconjuntos homogéneos determinados por la prueba HSD Tukey, los tratamientos se agrupan según su efectividad. El Control Negativo se encuentra en el primer subconjunto, indicando que tiene la efectividad más baja comparado con los otros tratamientos. El Aceite Esencial al 10% forma parte del segundo subconjunto, mostrando una efectividad superior al Control Negativo pero inferior a otras concentraciones de Aceite Esencial. El Aceite Esencial al 25% está en el tercer subconjunto, con una efectividad superior al 10%, pero aún por debajo de concentraciones más altas. El Aceite Esencial al 50% se encuentra en el cuarto subconjunto, siendo más efectivo que al 25%, pero menos efectivo que al 100%. Finalmente, el Aceite Esencial al 100% y el Control Positivo (Clorhexidina) están en el quinto subconjunto, siendo los más efectivos. El Control Positivo muestra la mayor efectividad entre todos los tratamientos. Los valores de significancia indican que las diferencias entre estos subconjuntos son estadísticamente significativas.

Tabla 14 Análisis de la varianza a un factor de los diámetros de halo producidos frente al control positivo para la bacteria *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

ANOVA					
Enterococcus faecalis ATCC 29212					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1610,1	5,0	322,0	349,2	0,0
Dentro de grupos	49,8	54,0	0,9		
Total	1659,9	59,0			

El análisis de varianza (ANOVA) para *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 muestra que, el valor p en el análisis de varianza (ANOVA) para *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 es 0,0, lo que indica que las diferencias entre las medias de los grupos son altamente significativas. Esto sugiere que al menos uno de los tratamientos o condiciones tiene un efecto significativamente diferente de los otros.

Tabla 15 Prueba Post hoc de HSD TUKEY de diámetros de halo para la bacteria *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

Comparaciones múltiples HSD Tukey						
Tratamiento		Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Aceite Esencial 10 %	Aceite Esencial 25 %	-2,7	0,43	0,00	-3,97	-1,43
	Aceite Esencial 50 %	-4,8	0,43	0,00	-6,07	-3,53
	Aceite Esencial 100 %	-7,8	0,43	0,00	-9,07	-6,53
	Control Negativo	7,6	0,43	0,00	6,33	8,87
	Control Positivo (Clorhexidina)	-6,9	0,43	0,00	-8,17	-5,63
Aceite Esencial 25 %	Aceite Esencial 10 %	2,7	0,43	0,00	1,43	3,97
	Aceite Esencial 50 %	-2,1	0,43	0,00	-3,37	-0,83
	Aceite Esencial 100 %	-5,1	0,43	0,00	-6,37	-3,83
	Control Negativo	10,3	0,43	0,00	9,03	11,57
	Control Positivo (Clorhexidina)	-4,2	0,43	0,00	-5,47	-2,93
Aceite Esencial 50 %	Aceite Esencial 10 %	4,8	0,43	0,00	3,53	6,07
	Aceite Esencial 25 %	2,1	0,43	0,00	0,83	3,37
	Aceite Esencial 100 %	-3	0,43	0,00	-4,27	-1,73
	Control Negativo	12,4	0,43	0,00	11,13	13,67
	Control Positivo (Clorhexidina)	-2,1	0,43	0,00	-3,37	-0,83
Aceite Esencial 100 %	Aceite Esencial 10 %	7,8	0,43	0,00	6,53	9,07
	Aceite Esencial 25 %	5,1	0,43	0,00	3,83	6,37
	Aceite Esencial 50 %	3	0,43	0,00	1,73	4,27
	Control Negativo	15,4	0,43	0,00	14,13	16,67
	Control Positivo (Clorhexidina)	0,9	0,43	0,31	-0,37	2,17
Control Negativo	Aceite Esencial 10 %	-7,6	0,43	0,00	-8,87	-6,33
	Aceite Esencial 25 %	-10,3	0,43	0,00	-11,57	-9,03
	Aceite Esencial 50 %	-12,4	0,43	0,00	-13,67	-11,13
	Aceite Esencial 100 %	-15,4	0,43	0,00	-16,67	-14,13
	Control Positivo (Clorhexidina)	-14,5	0,43	0,00	-15,77	-13,23
Control Positivo (CHX)	Aceite Esencial 10 %	6,9	0,43	0,00	5,63	8,17
	Aceite Esencial 25 %	4,2	0,43	0,00	2,93	5,47
	Aceite Esencial 50 %	2,1	0,43	0,00	0,83	3,37
	Aceite Esencial 100 %	-0,9	0,43	0,31	-2,17	0,37
	Control Negativo	14,5	0,43	0,00	13,23	15,77

En la tabla 15 se observan las comparaciones múltiples mediante la prueba HSD de Tukey, estas muestran diferencias significativas en la efectividad de los tratamientos. El Aceite Esencial al 10% es menos efectivo de todas las concentraciones y el Control Positivo (Clorhexidina), pero más efectivo que el Control Negativo. El Aceite Esencial al 25% es más efectivo que el 10%, pero menos que el 50%, el 100%, y el Control Positivo. El Aceite Esencial al 50% supera al 10% y al 25%, pero es menos efectivo que el 100% y el Control Positivo. El Aceite Esencial al 100% es altamente efectivo, superando a todas las demás concentraciones y al Control Negativo, sin diferencia significativa con el Control Positivo. El Control Negativo es consistentemente el menos efectivo, mientras que el Control Positivo es más efectivo que las concentraciones de Aceite Esencial al 10%, 25%, y 50%, y similar al 100%. Estas diferencias son significativas (valor $p \leq 0,05$), excepto entre el Aceite Esencial al 100% y el Control Positivo ($p = 0,31$).

Tabla 16 Subconjuntos obtenidos de la aplicación de las diferentes concentraciones del aceite esencial sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

Subconjuntos Homogéneos						
HSD Tukey						
Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Control Negativo	10	0,000				
Aceite Esencial 10 %	10		7,600			
Aceite Esencial 25 %	10			10,300		
Aceite Esencial 50 %	10				12,400	
Aceite Esencial 100 %	10					14,500
Control Positivo (Clorhexidina)	10					15,400
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	0,305

Fuente: Elaboración Propia

La tabla 16 muestra los subconjuntos homogéneos según la prueba HSD Tukey, agrupando los tratamientos por su eficacia antimicrobiana. El Control Negativo tiene la menor efectividad, con un valor de inhibición de 0 mm, mientras que el Aceite Esencial al 10% es más efectivo, pero todavía por debajo de las concentraciones superiores, con un valor de 7.6 mm. A medida que la concentración del aceite aumenta, también lo hace su eficacia. El Aceite Esencial al 25% es más efectivo que el 10%, pero inferior al 50% y 100%.

Finalmente, el Aceite Esencial al 100% y la Clorhexidina (Control Positivo) son los tratamientos más efectivos, con valores de inhibición de 14.5 mm y 15.4 mm respectivamente. Las diferencias entre los tratamientos son estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$), salvo entre el Aceite Esencial al 100% y la Clorhexidina, que presentan una eficacia similar. Esto sugiere que a concentraciones elevadas, el aceite esencial tiene un efecto comparable al de la Clorhexidina.

IV. DISCUSIÓN

4.1. Discusión de resultados

Las enfermedades de la cavidad bucal, como las caries y las afecciones periodontales, representan un problema de salud significativo, el cual está estrechamente relacionado con un desequilibrio en la microbiota oral. Esta microbiota está compuesta por un conjunto diverso de microorganismos que, bajo condiciones normales, mantienen un equilibrio necesario para la salud bucal. Sin embargo, cuando este balance se altera, patógenos como *Streptococcus sp.* y *Enterococcus sp.* proliferan, aprovechando mecanismos como la producción de ácidos y la formación de biofilms para aumentar su patogenicidad y resistencia a las condiciones adversas de la cavidad oral, como el pH de la saliva, la presencia de oxígeno y los factores inmunológicos (29). Además, estas infecciones bucales no solo afectan la salud oral, sino que también están asociadas a factores de riesgo sistémicos, como la diabetes, enfermedades cardiovasculares y ciertos tumores, subrayando la importancia de controlar estas bacterias para prevenir complicaciones mayores.

Teniendo en cuenta todo esto en el presente trabajo de investigación determinamos el efecto antimicrobiano *in vitro* del aceite esencial de *Tagetes minuta* sobre *S. mutans* y *E. Faecalis*. Para lo cual se propuso una metodología similar a la realizada por Chota V. en el cual se determinó el efecto antibacteriano del extracto del Mastuerzo sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.(30). En la primera etapa se realizó la recolección del material, con lo cual se pudieron obtener 9,7 ml de aceite esencial, lo que representa un rendimiento de extracción del 0,21% este valor es superior al obtenido por Zarate- Escobedo, en cuya investigación se reportaron rendimientos cercanos al 0.05%, estas diferencias están relacionadas con las condiciones de cultivo de la planta, factores como la calidad del suelo, el riego y las condiciones ambientales impactan directamente en el rendimiento de extracción de los aceites esencial, además otros factores como el clima y la edad de la planta también influyen en este parámetro (31).

En relación a la caracterización fisicoquímica del aceite esencial se apreciaron características que pueden influir en el efecto inhibitorio frente a bacterias. El índice

de refracción de 1.46 sugiere una composición rica en compuestos aromáticos y volátiles típicos de los aceites esenciales, lo cual es importante para su actividad biológica (32). Los compuestos responsables de este índice suelen incluir terpenos y compuestos fenólicos, conocidos por sus propiedades antimicrobianas (22). Sin embargo, este parámetro por sí solo no indica la potencia antimicrobiana directa, sino más bien la pureza y composición del aceite. El sabor herbáceo e intenso y el olor *sui generis* sugieren la presencia de compuestos volátiles específicos de esta especie vegetal. Este perfil sensorial no solo aporta a su identidad, sino que también puede afectar la aceptabilidad en formulaciones de productos. Los valores de densidad menores a 1 g/ml (0.89 g/ml) son comunes en aceites esenciales (33), reflejando una estructura ligera que facilita la penetración en membranas celulares y que al ser menor a la del agua facilita su separación durante la extracción. Esta propiedad es clave cuando se considera la biodisponibilidad del aceite en medios acuosos y en aplicaciones terapéuticas. El color amarillo y la textura oleosa son características visuales y táctiles que refuerzan la identificación del aceite esencial y sugieren la presencia de compuestos como carotenoides y otros pigmentos naturales, además se observó la formación de emulsiones. Si bien estos aspectos no impactan directamente en la actividad antimicrobiana, son indicadores de la composición química global del aceite.

Con respecto a los halos obtenidos durante la prueba de Kirby Bauer se observó que el aceite esencial (AE) tiene una actividad antimicrobiana que aumenta con su concentración sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. A una concentración del 10%, los halos de inhibición son pequeños, entre 9 y 13 mm. Con concentraciones del 25% y 50%, los halos crecen, alcanzando entre 11 y 14 mm y 12 y 15 mm, respectivamente. A la concentración más alta del 100%, los halos de inhibición son los mayores, variando entre 16 y 19 mm, lo que indica la máxima eficacia del aceite esencial en esta concentración. Comparado con el control positivo, clorhexidina al 0,12%, que presenta halos de entre 16 y 22 mm, el aceite esencial muestra una eficacia menor, aunque su actividad mejora con la concentración. El control negativo, etanol, no muestra halos de inhibición, confirmando que no tiene efecto antimicrobiano. En resumen, el aceite esencial es más efectivo a concentraciones

más altas, pero no supera la eficacia de la clorhexidina.

El diámetro de los halos de inhibición del aceite esencial sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 aumenta con la concentración del aceite. A una concentración del 10%, los diámetros de los halos varían entre 6 y 9 mm. Al elevar la concentración al 25%, los halos van de 9 a 12 mm, y con una concentración del 50%, los diámetros aumentan a un rango de 11 a 14 mm. Finalmente, a una concentración del 100%, los halos de inhibición alcanzan entre 14 y 17 mm. Esto demuestra que el aceite esencial tiene una mayor actividad antimicrobiana a concentraciones más altas. El control positivo, clorhexidina al 0,12%, muestra halos de inhibición de 13 a 16 mm, lo que indica que es más efectivo que el aceite esencial, aunque la diferencia es menos pronunciada en comparación con *Streptococcus mutans*. El control negativo, etanol, no produce halos de inhibición, confirmando la ausencia de actividad antimicrobiana del etanol.

Para iniciar el análisis estadístico la prueba de Shapiro-Wilk evaluó la normalidad de los datos de los diámetros de los halos de inhibición del aceite esencial y del control positivo en *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*. Para *Streptococcus mutans*, los resultados muestran valores de significancia de 0.20, 0.29, 0.15 y 0.11 para las concentraciones de aceite esencial de 10%, 25%, 50% y 100%, respectivamente. Estos valores están por encima del umbral de 0.05, lo que sugiere una tendencia a la normalidad, aunque los datos de las concentraciones más altas, especialmente al 100%, están cercanos al límite, lo que indica una posible desviación leve de la normalidad. El control positivo de clorhexidina en *Streptococcus mutans* presenta un valor de 0.24, que indica una distribución normal. Para *Enterococcus faecalis*, los valores de significancia del aceite esencial a las concentraciones de 10%, 25%, 50% y 100% son 0.24, 0.12, 0.17 y 0.12, respectivamente. Esto indica que los datos tienden a la normalidad, aunque las concentraciones del 25% y 100% están cercanas al umbral de 0.05, sugiriendo una ligera desviación. El control positivo de clorhexidina en *Enterococcus faecalis* tiene un valor de 0.26, mostrando una distribución normal.

Los análisis ANOVA realizados para los tratamientos con aceites esenciales y Clorhexidina mostraron diferencias significativas en la eficacia de los tratamientos ($p < 0,05$). En *Streptococcus mutans*, la variabilidad entre los grupos fue altamente significativa, con un valor $p < 0,001$, indicando que al menos uno de los tratamientos difiere en su efectividad para inhibir la bacteria. De manera similar, en *Enterococcus faecalis*, los resultados reflejaron diferencias significativas entre los tratamientos, lo que destaca la importancia de evaluar cada concentración de aceite esencial y su comparación con el control estándar, la Clorhexidina.

Los resultados de las comparaciones múltiples mediante la prueba HSD de Tukey revelan patrones claros de efectividad dependientes de la concentración. Para *Streptococcus mutans*, el Aceite Esencial al 10% mostró una efectividad significativamente menor en comparación con las concentraciones al 25%, 50% y 100%, así como con la Clorhexidina. El aumento en la concentración del aceite esencial mejoró significativamente la efectividad, alcanzando su máximo en la concentración al 100%, la cual no mostró diferencias significativas con la Clorhexidina, sugiriendo una equivalencia en la eficacia antimicrobiana entre ambos tratamientos a estas concentraciones elevadas.

En cuanto a *Enterococcus faecalis*, se observó un patrón similar. El Aceite Esencial al 10% tuvo la menor efectividad, aumentando progresivamente con las concentraciones más altas. El Aceite Esencial al 100% y la Clorhexidina fueron los tratamientos más efectivos, sin diferencias estadísticamente significativas entre ellos. Esto indica que, al igual que en *Streptococcus mutans*, el Aceite Esencial al 100% puede ser tan eficaz como la Clorhexidina para inhibir *Enterococcus faecalis*, ofreciendo una alternativa potencialmente menos tóxica y con menos efectos secundarios.

El análisis de los subconjuntos homogéneos mediante la prueba de Tukey permitió agrupar los tratamientos según su efectividad. El Control Negativo se posicionó consistentemente en el subconjunto de menor efectividad, mientras que el Aceite Esencial al 10% se situó en un grupo superior, pero siempre separado de las

concentraciones más altas y la Clorhexidina. A medida que aumentó la concentración del Aceite Esencial, se observó una progresión clara hacia subconjuntos de mayor efectividad, culminando con el Aceite Esencial al 100% y la Clorhexidina en el grupo más efectivo.

En estudios previos, como el de Chahrazed B. (2021), se encontró que el aceite esencial de *Citrus aurantium L.* era efectivo incluso a concentraciones bajas, inhibiendo el crecimiento de *Streptococcus mutans* a 0.3 µg/mL. Esto contrasta con los resultados obtenidos en el presente estudio, donde el aceite de *Tagetes minuta* mostró halos de inhibición entre 9 y 13 mm a una concentración del 10%, y entre 16 y 19 mm a una concentración del 100%. A pesar de que el aceite de *Tagetes minuta* tiene una acción antimicrobiana notable, su efectividad es menor a bajas concentraciones en comparación con *Citrus aurantium*, lo que sugiere que este último es más potente a dosis bajas. Sin embargo, el aumento en la concentración de *Tagetes minuta* mejora su eficacia, alcanzando valores comparables en concentraciones más altas (13).

En otra investigación realizada por Ausama A. (2020) con el aceite esencial de *Tagetes patula*, se observó una potente actividad antibacteriana contra bacterias grampositivas y gramnegativas. En particular, los resultados contra *Escherichia coli* fueron destacados, con concentraciones mínimas inhibitorias de hasta 0.08 µL/mL. En el presente estudio, el aceite de *Tagetes minuta* mostró una actividad similar, pero a concentraciones mucho más altas, lo que sugiere que *Tagetes patula* podría ser más efectivo que *Tagetes minuta* en algunos contextos, como contra bacterias gramnegativas. No obstante, los resultados obtenidos frente a *Enterococcus faecalis* demuestran que *Tagetes minuta* sigue siendo una alternativa prometedora, con halos de inhibición de hasta 17 mm a 100% de concentración (14).

Asimismo, el aceite de orégano, estudiado por Fatemeh H. (2020), mostró una actividad antimicrobiana comparable contra *Streptococcus mutans*. En ese estudio, el aceite de orégano produjo halos de inhibición entre 12 y 15 mm a concentraciones similares a las empleadas en el presente trabajo. Al comparar ambos aceites, se

puede observar que *Tagetes minuta* tiene una efectividad similar frente a *S. mutans*, con halos de inhibición que alcanzan hasta los 19 mm en las concentraciones más altas, aunque el aceite de orégano parece tener una mayor potencia a dosis más bajas. Esto sugiere que, aunque ambos aceites son efectivos, la concentración juega un papel crucial en la actividad antimicrobiana de cada uno (15).

El trabajo de Pure N. (2018) sobre el efecto antimicrobiano de *Tagetes minuta* frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* encontró que el aceite mostró halos de inhibición más grandes frente a *S. aureus* (hasta 27.29 mm) que los observados en el presente estudio contra *S. mutans* y *E. faecalis*. Esta diferencia en los tamaños de los halos sugiere que *Staphylococcus aureus* es más susceptible a *Tagetes minuta* que los patógenos bucales estudiados, lo que podría deberse a diferencias en las estructuras de las membranas celulares de las bacterias. Sin embargo, los resultados obtenidos en esta investigación aún son consistentes con los hallazgos previos, confirmando la eficacia del aceite esencial a concentraciones elevadas (16).

Por último, en el estudio de Cordero M. (2019) se evaluó el extracto etanólico de *Tagetes minuta* frente a *Pseudomonas aeruginosa*, una bacteria notoriamente resistente. El extracto mostró una sensibilidad alta a concentraciones de 80 mg/mL. Aunque el presente estudio utilizó el aceite esencial en lugar del extracto etanólico, se obtuvieron resultados comparables con halos de inhibición de hasta 19 mm frente a *Streptococcus mutans* y 17 mm frente a *Enterococcus faecalis* a concentraciones de 100%. Estos datos refuerzan la idea de que *Tagetes minuta* tiene un amplio espectro de actividad antimicrobiana, aunque su efectividad varía según la especie bacteriana y la formulación empleada (17).

Teniendo en cuenta los resultados del presente estudio coinciden con la literatura existente en cuanto a la capacidad de los aceites esenciales para inhibir el crecimiento de bacterias patógenas, pero también resaltan la importancia de las concentraciones utilizadas. A diferencia de aceites más potentes a bajas dosis, como el de naranja amarga o el de orégano, el aceite de *Tagetes minuta* requiere

concentraciones más elevadas para alcanzar niveles comparables de inhibición. Sin embargo, su efectividad contra *S. mutans* y *E. faecalis* demuestra su potencial como alternativa en el tratamiento de infecciones orales, especialmente cuando se buscan opciones menos tóxicas y más naturales en comparación con antisépticos convencionales como la clorhexidina. Estos hallazgos refuerzan la idea de que la efectividad antimicrobiana del Aceite Esencial es altamente dependiente de su concentración, con un impacto significativo en la inhibición de *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*. Mientras que las concentraciones más bajas proporcionan algún nivel de protección, las concentraciones al 100% alcanzan un nivel de efectividad comparable a los tratamientos antimicrobianos tradicionales, como la Clorhexidina (35).

4.2. Conclusiones

- El aceite esencial de *Tagetes minuta* presenta efecto antimicrobiano *in vitro* del sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, a las concentraciones de 25%, 50% y 100%
- La recolección de *Tagetes minuta* se llevó a cabo en Paccha Chica, Cajamarca, Perú, a una altitud de 2720 msnm. La ubicación geográfica específica es 7° 11' 39.19" S y 78° 29' 41.84" W, y se recolectaron un total de 7 kg de material vegetal.
- Se obtuvo un rendimiento de extracción del aceite esencial de *Tagetes minuta* fue de 0,21% a partir de 5 kg de material vegetal.
- El aceite esencial de *Tagetes minuta* presenta propiedades físico-químicas típicas, con un índice de refracción de 1,46, densidad de 0,89 g/ml, y características sensoriales intensas (olor *sui generis*, sabor herbáceo)
- El efecto antimicrobiano *in vitro* del aceite esencial de *Tagetes minuta* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 incrementa con el valor de la concentración del aceite esencial.
- La concentración de aceite esencial de *Tagetes minuta* que presento mayor actividad antimicrobiana sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y

Enterococcus faecalis ATCC 29212 según el análisis realizado fue la de 100%

4.3. Recomendaciones

- Se sugiere la realización de ensayos *in vivo* para evaluar la eficacia y seguridad de este aceite esencial.
- Se recomienda la realización de un análisis de cromatografía de gases para la caracterización del aceite a fin de describir los principales compuestos responsables de la actividad antimicrobiana descrita.
- Se recomienda evaluar la capacidad antimicrobiana de este aceite esencial sobre otros microorganismos que estén implicados en los procesos patogénicos de las caries dentales.
- Se recomienda realizar análisis de concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB) a fin de profundizar en la caracterización precisa de la eficacia antimicrobiana de los aceites esenciales frente a *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Margarita S, Quintana C, Sjoström PD, Dunier II, Socarrás A, Gloria I, et al. Microbiota de los ecosistemas de la cavidad bucal Microbiota of oral cavity ecosystems. *Rev Cuba Estomatol* [Internet]. 2017 [cited 2023 Feb 19];54(1). Available from: <http://scielo.sld.cu><http://scielo.sld.cu>
2. Valm AM. The Structure of Dental Plaque Microbial Communities in the Transition from Health to Dental Caries and Periodontal Disease. *J Mol Biol*. 2019 Jul 26;431(16):2957–69.
3. Lin Y, Chen J, Zhou X, Li Y. Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm formation by strategies targeting the metabolism of exopolysaccharides. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2021.1915959> [Internet]. 2021 [cited 2023 Feb 26];47(5):667–77. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/1040841X.2021.1915959>
4. Kim M-A, Rosa V, Min K-S. Characterization of *Enterococcus faecalis* in different culture conditions. 2020 [cited 2023 Feb 26]; Available from: www.nature.com/scientificreports
5. Ministerio de Salud del Perú (MINSA). El 90.4% de los peruanos tiene caries dental - Nota de Prensa [Internet]. 2019 [cited 2023 Feb 19]. Available from: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/noticias/45475-el-90-4-de-los-peruanos-tiene-caries-dental>
6. Saputo S, Faustoferri RC, Quivey RG. A Drug Repositioning Approach Reveals that *Streptococcus mutans* Is Susceptible to a Diverse Range of Established Antimicrobials and Nonantibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2018 Jan 1 [cited 2023 Mar 13];62(1). Available from: [/pmc/articles/PMC5740335/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30000000/)
7. Riaz M, Ahmad R, Rahman NU, Khan Z, Dou D, Sechel G, et al. Traditional uses, Phyto-chemistry and pharmacological activities of *Tagetes Patula* L. *J Ethnopharmacol*. 2020 Jun 12;255:112718.
8. Nélida Murga-Gutiérrez S, Carlos Alvarado-Ibáñez J, Yessenia Vera-Obando N, Microbiología Parasitología D. Efecto del follaje de *Tagetes minuta* sobre

- la nodulación radicular de *Meloidogyne incognita* en *Capsicum annuum*, en invernadero. *Rev Peru Biol* [Internet]. 2012 [cited 2023 Feb 26];19(3):257–60. Available from:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332012000300004&lng=es&nrm=iso&tlng=es
9. Baptista-Silva S, Borges S, Ramos OL, Pintado M, Sarmiento B. The progress of essential oils as potential therapeutic agents: a review. <https://doi.org/101080/1041290520201746698> [Internet]. 2020 Jul 3 [cited 2023 Feb 19];32(4):279–95. Available from:
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10412905.2020.1746698>
 10. Walia S, Mukhia S, Bhatt V, Kumar R, Kumar R. Variability in chemical composition and antimicrobial activity of *Tagetes minuta* L. essential oil collected from different locations of Himalaya. *Ind Crops Prod*. 2020 Aug 1;150:112449.
 11. Babaei K, Moghaddam M, Farhadi N, Ghasemi Pirbalouti A. Morphological, physiological and phytochemical responses of Mexican marigold (*Tagetes minuta* L.) to drought stress. *Sci Hortic (Amsterdam)*. 2021 Jun 27;284:110116.
 12. Erkmén O. Antibiotic sensitivity test technique. *Lab Pract Microbiol*. 2021 Jan 1;181–6.
 13. Benzaid C, Belmadani A, Tichati L, Djeribi R, Rouabhia M. Effect of *Citrus aurantium* L. Essential Oil on *Streptococcus mutans* Growth, Biofilm Formation and Virulent Genes Expression. *Antibiot* 2021, Vol 10, Page 54 [Internet]. 2021 Jan 8 [cited 2023 Mar 6];10(1):54. Available from:
<https://www.mdpi.com/2079-6382/10/1/54/htm>
 14. Safar A, Ghafoor A, Dastan D. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of *Tagetes patula* L. essential oil raised in Erbil, Iraq. *J Reports Pharm Sci* [Internet]. 2020 Jan 1 [cited 2023 Mar 6];9(1):59. Available from: <https://www.jrpsjournal.com/article.asp?issn=2322-1232;year=2020;volume=9;issue=1;spage=59;epage=67;auiast=Safar>
 15. Hejazinia F, Fozouni L, Azami NS, Mousavi S. The Anti-Biofilm Activity of

- Oregano Essential Oil Against Dental Plaque-Forming *Streptococcus mutans* In Vitro and In Vivo. *J Kermanshah Univ Med Sci.* 2020;24(3):107680.
16. Pure Malmorejon N. Efecto de la concentración del aceite esencial de las hojas del *Tagetes minuta* (huacatay) sobre su actividad antimicrobiana. 2018 [cited 2023 Mar 6]; Available from: <https://repositorio.uap.edu.pe/xmlui/handle/20.500.12990/3469>
 17. Cordero Hidalgo M, Pinedo Caldas G. Efecto antimicrobiano del extracto etanólico de las hojas de *tagetes minuta* l (huacatay) en cepas de *pseudomona aeruginosa*, in vitro. *Univ Inca Garcilaso la Vega* [Internet]. 2019 Feb 19 [cited 2023 Mar 6]; Available from: <http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/3803>
 18. Manuelo Illacutipa MI. Efecto antimicótico “in vivo” del ungüento a base del aceite esencial de *tagetes minuta* L. Huacatay frente a *Cándida albicans* ATCC 6538 en ratas albinas. *Univ Nac Jorge Basadre Grohmann* [Internet]. 2020 [cited 2023 Mar 6]; Available from: <http://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/UNJBG/4005>
 19. Del Lurdez M, Montaña CM, Rojas RB, Gaspar J, Riveroll RC. Metodología de la investigación para el área de la salud. 2013.
 20. De Sousa DP. Bioactive Essential Oils and Cancer. *Bioactive Essential Oils and Cancer.* 2015. 1–292 p.
 21. Cueva Rosales J. Actividad Antimicrobiana Del Aceite Esencial De Romero (*Rosmarinus officinalis*) Frente Al Crecimiento De *Streptococcus mutans* ATCC 25175 in vitro. Lima 2016. 2017.
 22. Abdoul-Latif FM, Elmi A, Merito A, Nour M, Risler A, Ainane A, et al. Essential Oils of *Tagetes minuta* and *Lavandula coronopifolia* from Djibouti: Chemical Composition, Antibacterial Activity and Cytotoxic Activity against Various Human Cancer Cell Lines. *Int J Plant Biol* 2022, Vol 13, Pages 315-329 [Internet]. 2022 Aug 24 [cited 2023 Feb 19];13(3):315–29. Available from: <https://www.mdpi.com/2037-0164/13/3/26/htm>
 23. Ntondini SS, Lenetha G, Dzogbewu TC. Antimicrobial activity of *Salvia officinalis* against *Streptococcus mutans* causing dental implant failure: An in

- vitro study. *J Int Oral Heal*. 2021;13(5):499–507.
24. Lipa F. Estudio comparativo en el proceso de extracción de aceite esencial de eucalipto (*Eucalipto glóbulus labill*) mediante el método de destilación por arrastre de vapor y el método de hidrodestilación asistido por radiación microondas. Tesis de Grado [Internet]. 2014;97. Available from: <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/3986/IQlihufg025.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 25. Mijail F, Piero S, Costa M, Lucía G, Estela B. Evaluación del poder inhibitorio de extractos obtenidos de plantas medicinales sobre enterobacterias patógenas de importancia en Salud Pública. 2019;
 26. Pommerville JC. *Alcamo's fundamentals of microbiology*. 9th ed. Cambridge; 2010. 915 p.
 27. Aguilar-Ancori EG, Aguilar-Ancori KV, Garay B, Mamani V, Quispe-Flórez MM. Actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* de aceites esenciales de cinco plantas alto andinas. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2018 Apr 5;35(1):161.
 28. Humpiri Parizela RM, Baez Mamani A. Efecto Antimicrobiano del Aceite Esencial de *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng) K. Schum (Copoazu) frente a bacterias patógenas *S. pyogenes* y *S. aureus*. 2022 Jan 4 [cited 2022 Oct 22]; Available from: <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/883>
 29. Blancas B, Lanzagorta M de L, Jiménez-García LF, Lara R, Molinari JL, Fernández AM. Study of the ultrastructure of *Enterococcus faecalis* and *Streptococcus mutans* incubated with salivary antimicrobial peptides. *Clin Exp Dent Res* [Internet]. 2021 Jun 1 [cited 2024 Sep 16];7(3):365. Available from: [/pmc/articles/PMC8204031/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34204031/)
 30. Chota Vidal LR, Chirinos Rodríguez JM. Efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Tropaeolum majus* en cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. *Univ Nac Trujillo* [Internet]. 2018;1:67. Available from: <https://renati.sunedu.gob.pe/handle/sunedu/2224192>
 31. Zarate-Escobedo J, Castañeda-González EL, Cuevas-Sánchez JA, Carrillo-

- Fonseca CL, Ortiz-Torres C, Ibarra-Estrada E, et al. ACEITE ESENCIAL DE ALGUNAS POBLACIONES DE *Tagetes lucida* CAV. DE LAS REGIONES NORTE Y SUR DEL ESTADO DE MÉXICO. *Rev Fitotec Mex* [Internet]. 2018 Jun 7 [cited 2024 Sep 7];41(2):199–209. Available from: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802018000200199&lng=es&nrm=iso&tlng=es
32. Aparco RH, Laime M del CD, Tadeo FT, Cerna HWA, Cáceres EM, Camacho JA, et al. Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Essential Oil of Species of the Genus *Tagetes*. 2022 Dec 27 [cited 2024 Sep 16]; Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/85342>
 33. Gakuubi MM, Wagacha JM, Dossaji SF, Wanzala W. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils of *Tagetes minuta* (Asteraceae) against Selected Plant Pathogenic Bacteria. *Int J Microbiol* [Internet]. 2016 Jan 1 [cited 2024 Sep 16];2016(1):7352509. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1155/2016/7352509>
 34. Moromi-Nakata H, Ramos-Perfecto D, Villavicencio-Gastelumendi J, Martínez-Cadillo E, Mendoza-Rojas A, Chavez-Alvarado E, et al. 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. *Int J Odontostomatol* [Internet]. 2018 Dec [cited 2024 Sep 7];12(4):355–61. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-381X2018000400355&lng=es&nrm=iso&tlng=pt
 35. Carlos P, Olga L, Cristian V. Susceptibilidad de cepas de *streptococcus mutans* productores y no productores de biofilm, Frente a clorhexidina, triclosán y fluoruro de sodio utilizadas en colutorios orales. 2007;23–8.

ANEXOS:

Anexo A Instrumentos de recolección de datos

Ficha de Resultados

Caracterización Fitoquímica Aceite esencial de Tagetes Minuta:

N°	Muestra	Características Físicoquímicas					
		Índice De Refracción	Densidad	Punto De Ebullición	Color	Olor	Textura
1	Aceite esencial de <i>Tagetes Minuta</i>						

Ficha de Resultados

Ficha de recolección de Datos (Diámetros de Halo de inhibición)							
Cepa	Repetición	Aceite Esencial 10 %	Aceite Esencial 25 %	Aceite Esencial 50 %	Aceite Esencial 100 %	Control Positivo	Control Negativo
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	R1						
	R2						
	R3						
	R4						
	R5						
	R6						
	R7						
	R8						
	R9						
	R10						
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	R1						
	R2						
	R3						
	R4						
	R5						
	R6						
	R7						
	R8						
	R9						
	R10						

Escala de estimación de solubilidad

Solvente	Solubilidad			
	-	+	++	+++
Agua				
Etanol 96°				
Alcohol Isopropílico				
Cloroformo				
Éter De Petróleo				

Donde:

- (-) = insoluble
- (+) = poco soluble
- (++) = soluble
- (+++) = muy soluble

Anexo B Matriz de Operalización de Variables

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Escala de medición	N° de ítems	Valor
Aceite esencial de <i>Tagetes Minuta</i>	Metabolito secundario de la planta <i>Tagetes minuta</i> .	Obtención por medio de extracción por arrastre de vapor asistido por Clevenger, para la extracción del aceite esencial.	Marcha Físicoquímica	índice de refracción: densidad: color solubilidad: color y apariencia	# % g/L +/-	4	(Cuantitativo y Cualitativo)
Efecto antimicrobiano del aceite esencial de <i>Tagetes minuta</i> sobre <i>Streptococcus Mutans</i> y <i>Enterococcus Faecalis</i>	Inhibición del crecimiento de <i>Streptococcus Mutans</i> y <i>Enterococcus Faecalis</i> originado por la aplicación del aceite esencial	Metodología Kirby Bauer por medio de la evaluación de la medida de los halos de inhibición de crecimiento de <i>Streptococcus Mutans</i> y <i>Enterococcus Faecalis</i> .	Inhibición del crecimiento bacteriano	Diámetro de halo de inhibición	Zona de diámetro menor o igual a 8 mm será considerada como nula (-), entre 8 y 14 mm como sensible (+), entre 14 y 19 mm como muy sensible (++) y mayor a 19 mm como sumamente sensible (S.S.=+++)	4	8 -19 mm (Cuantitativo)

Anexo C Identificación taxonómica especie vegetal *Tagetes minuta*



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ÁREA DE BOTÁNICA
HERBARIO CPUN "ISIDORO SÁNCHEZ VEGA"

herbariocpuniv@gmail.com

Av. Atahualpa N° 1050 - Cajamarca



Asunto: Constancia de Identificación Botánica

A QUIEN CORRESPONDA:

QUIEN SUSCRIBE, EL CURADOR DEL HERBARIO CPUN "ISIDORO SÁNCHEZ VEGA", DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA – PERÚ

HACE CONSTAR:

Que, de parte de: Norma Hilda Chidote Mlnchan y Yandira Elizabeth Alfaro Ruiz, bachilleres de la Escuela Profesional de Farmacia y Bloquímica, de la Universidad Particular María Auxiliadora (UMA) de la ciudad de Lima; es parte del Proyecto de tesis. Efecto antimicrobiano *in vitro* del aceite esencial de *Tagetes minuta* L. sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, han recibido una muestra botánica, las misma que fue identificada y ubicada taxonómicamente, en esta dependencia, como:

- Reino Plantae
- División Magnoliophyta
- Clase Magnollosida
- Orden Asterales
- Familia Asteraceae
- Género Tagetes
- Especie *Tagetes minuta* L.

La especie es conocida como en el medio como "Huacatay, y otros, fue colectada en el centro poblado Paccha Chica Baja, distrito de Cajamarca, provincia y departamento de Cajamarca a 2720 msnm, en las coordenadas 7° 11' 39.19" S. 78° 29' 41.84" W.

A petición de la parte interesada y para los fines legales que conllevan, se extiende la presente constancia para los fines que sean necesarios.

Cajamarca, 05 de julio del 2024



M.Sc. Ing. Juan F. Montoya Quino
Curador del Herbario "Isidoro Sánchez Vega"
CPUN-UNC

cc: Secretaría del Herbario.

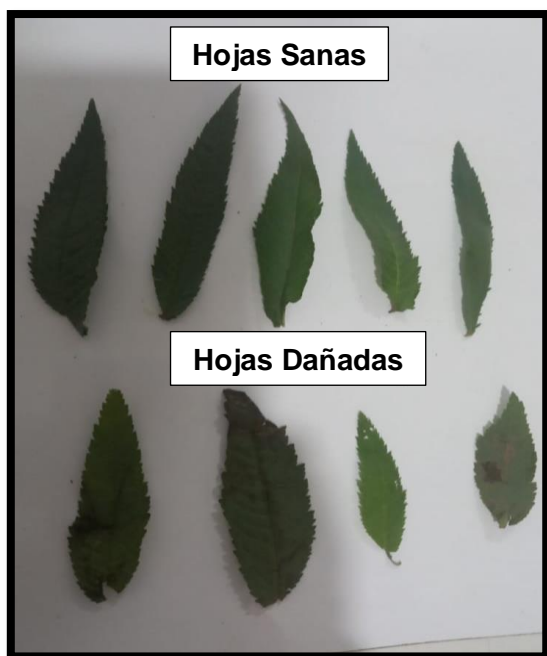
Anexo D Evidencias fotográficas



Recolección del material vegetal Centro Poblado Paccha Chica Baja - Cajamarca



Selección del material vegetal de *Tagetes Minuta*



Ejemplares foliares de *Tagetes Minuta*



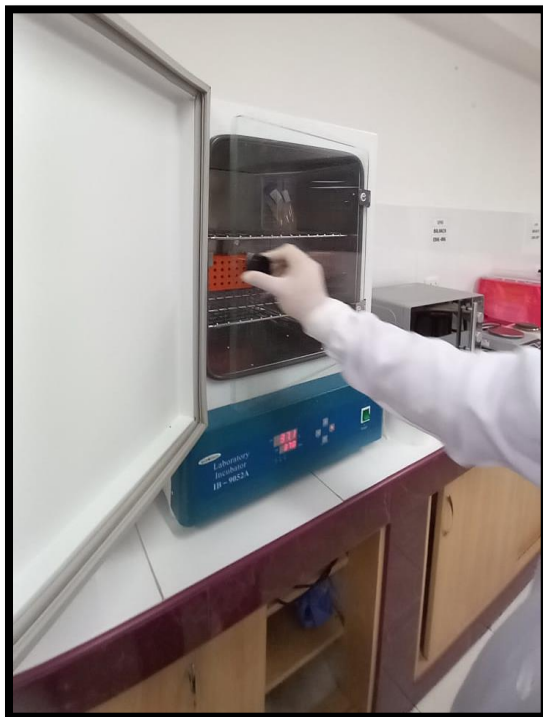
Extracción del aceite esencial de *Tagetes minuta* por arrastre de vapor



Reactivación de Cepas Bacterianas ATCC



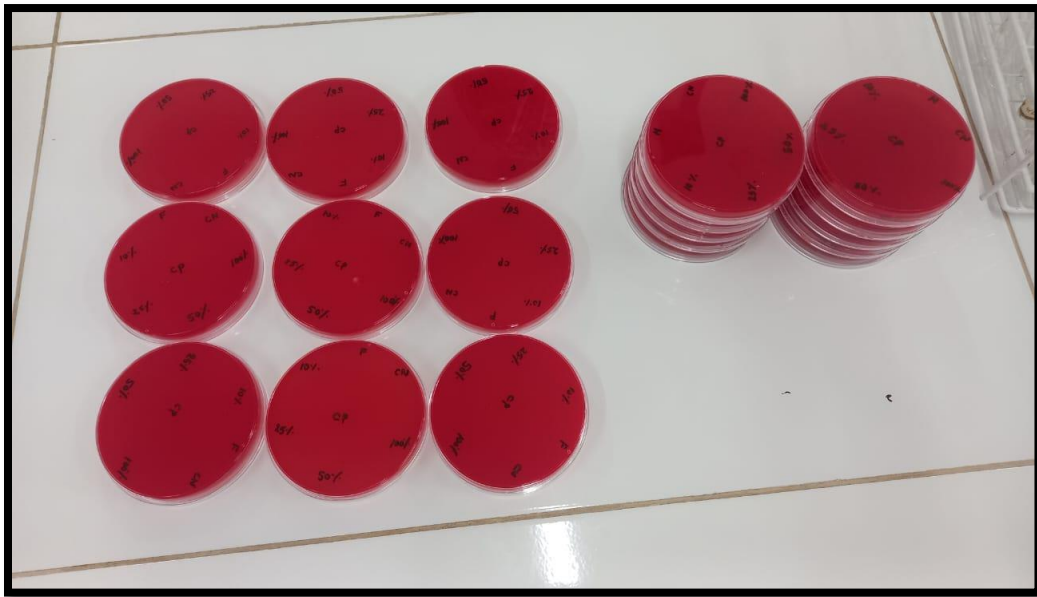
Preparación de Medio de cultivo Microbiológico



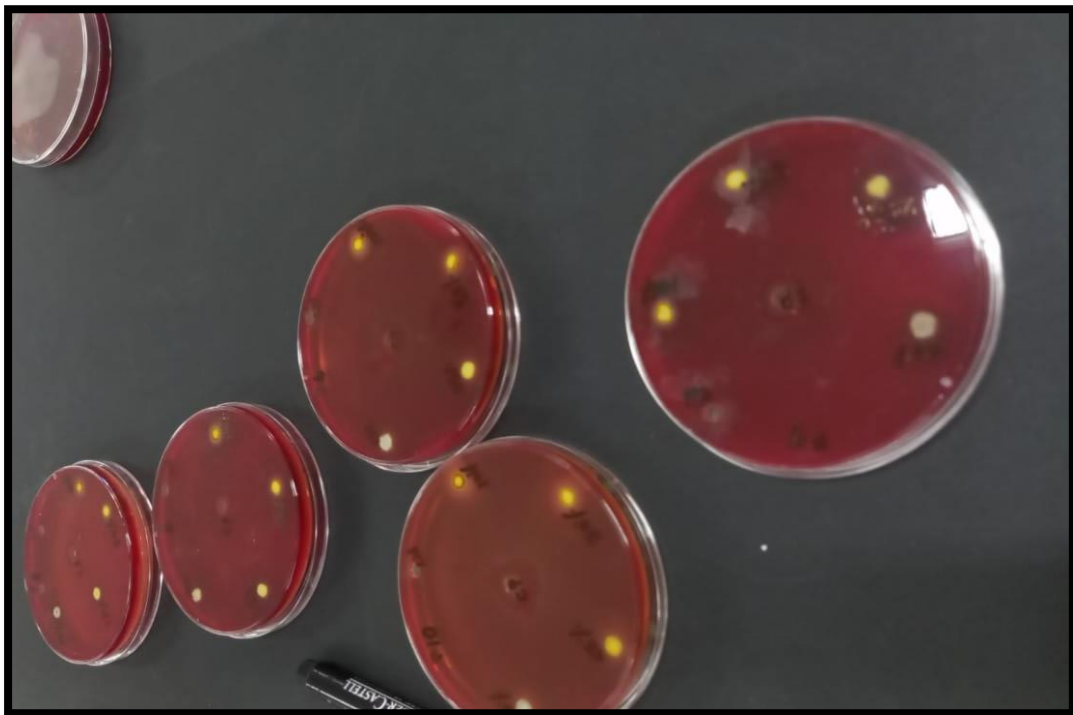
Incubación de bacterias reactivadas



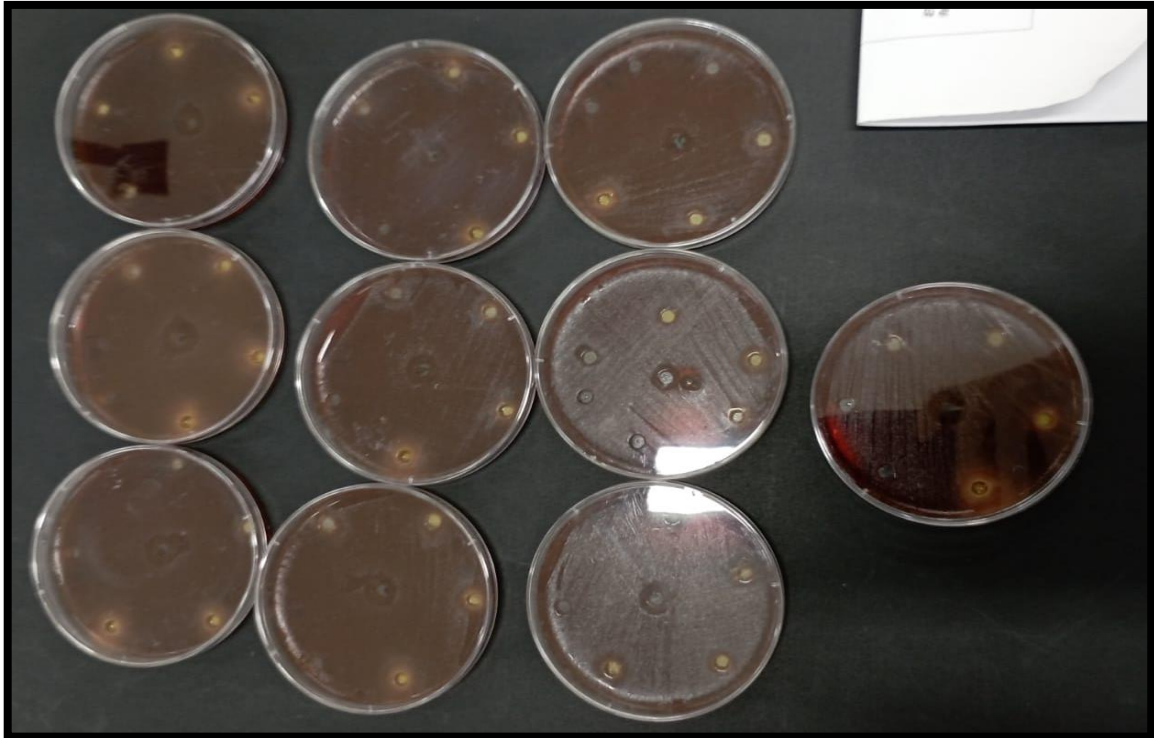
Servido de Placas con Agar Müller Hinton suplementado con Sangre



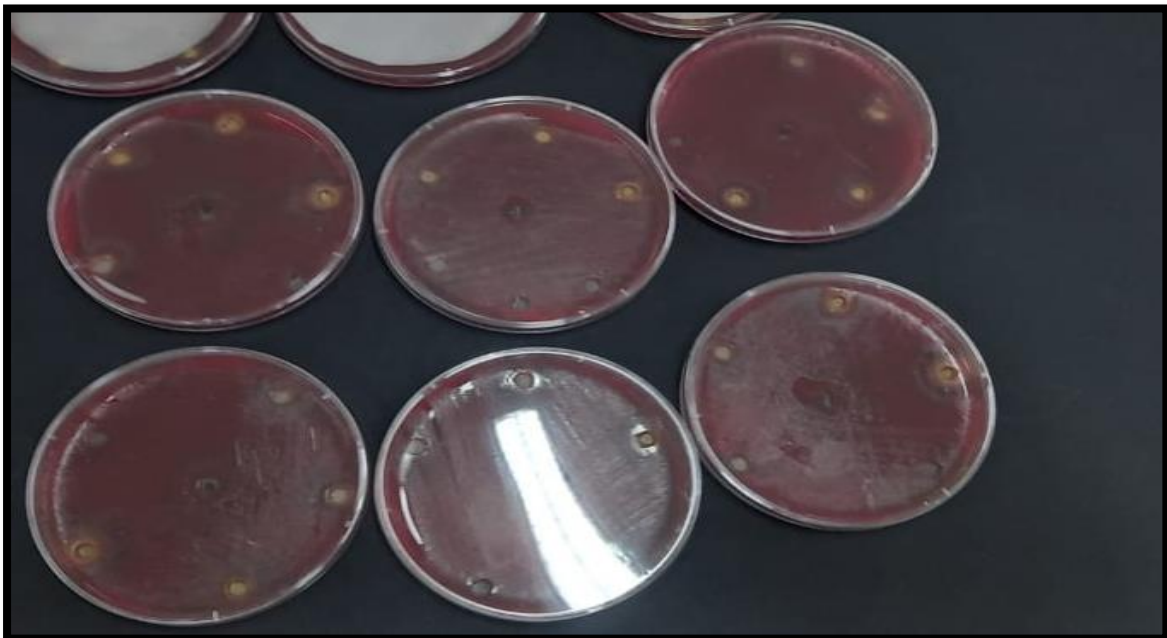
Placas con Agar Müller Hinton suplementado con Sangre para la prueba de Antibiograma



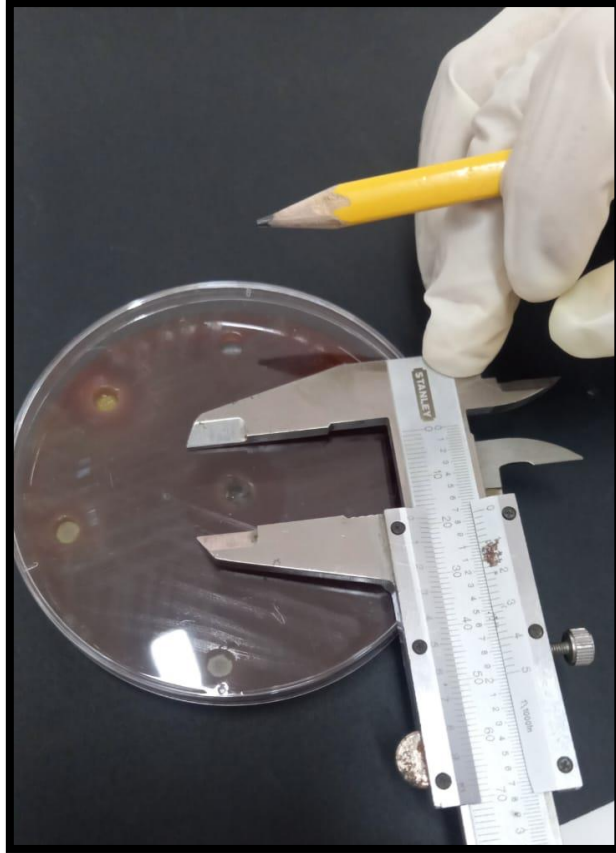
Placas con Agar Müller Hinton con pocillos que contienen las concentraciones de aceite de *Tagetes minuta*



Resultados del ensayo de actividad antimicrobiana por el método de Kirby Bauer, en donde se observa la formación de halos de inhibición sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175



Resultados del ensayo de actividad antimicrobiana por el método de Kirby Bauer, en donde se observa la formación de halos de inhibición sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212



Medida de Halos de inhibición formados durante la prueba de antibiograma