



**Universidad
Norbert Wiener**

Powered by **Arizona State University**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA ACADÉMICO DE ODONTOLOGÍA**

Tesis

Evaluación in vitro de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de eucalyptus sp. (eucalipto) y su comparación con el gluconato de clorhexidina al 0,12% frente a porphyromonas gingivalis

**Para optar el Título Profesional de
Cirujano Dentista**

Presentado por:

Autor: Quispe Rios, Sergio Joel

Asesora: Mg. Morante Maturana, Sara Angelica

Código ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9715-728X>

Lima – Perú

2025

 Universidad Norbert Wiener	DECLARACIÓN JURADA DE AUTORIA Y DE ORIGINALIDAD DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN	
	CÓDIGO: UPNW-GRA-FOR-033	VERSIÓN: 01 REVISIÓN: 01

Yo, Sergio Joel Quispe Rios egresado de la Facultad de **Ciencias de la Salud** y Escuela Académica Profesional de **Odontología** de la Universidad privada Norbert Wiener declaro que el trabajo de investigación “EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE EUCALYPTUS SP. (EUCALIPTO) Y SU COMPARACIÓN CON EL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0,12% FRENTE A PORPHYROMONAS GINGIVALIS” Asesorado por el docente: MORANTE MATURANA Sara Angelica DNI: 10138106 ORCID: 0000-0001-9715-728X, tiene un índice de similitud de (10) (diez) % con código OID:14912:441202840 verificable en el reporte de originalidad del software Turnitin.

Así mismo:

1. Se ha mencionado todas las fuentes utilizadas, identificando correctamente las citas textuales o paráfrasis provenientes de otras fuentes.
2. No he utilizado ninguna otra fuente distinta de aquella señalada en el trabajo.
3. Se autoriza que el trabajo puede ser revisado en búsqueda de plagios.
4. El porcentaje señalado es el mismo que arrojó al momento de indexar, grabar o hacer el depósito en el turnitin de la universidad y,
5. Asumimos la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión en la información aportada, por lo cual nos sometemos a lo dispuesto en las normas del reglamento vigente de la universidad.




Firma de autor 1

Nombres y apellidos del Egresado:

Sergio Joel Quispe Rios

DNI: 48259899



Firma

Nombres y apellidos del Asesor: MORANTE MATURANA Sara Angelica

DNI: 10138106

Lima, 21 de Marzo de 2025

Dedicatoria

A mis padres por haberme forjado como la persona que soy hoy en día; muchos de mis logros se los debo a ustedes en los que se incluye este. Me formaron con reglas y con algunas libertades, pero al final de cuentas, me motivaron constantemente para alcanzar mis anhelos y metas propuestas.

Gracias madre y padre

Agradecimiento

Primeramente, doy gracias a Dios por darme la oportunidad de ponerme en mi camino a grandes profesionales de la odontología que hicieron parte de este proceso integral de formación y permitirme convertirme en ser un profesional en lo que tanto me apasiona, teniendo como recuerdo y prueba existente en la historia; esta tesis, que perdurara dentro de los conocimientos y desarrollo de las demás generaciones que están por llegar

Índice

Dedicatoria.....	2
Agradecimiento	3
Índice	4
ÍNDICE DE TABLAS.....	7
ÍNDICE DE FIGURAS	8
Resumen	9
Abstract.....	10
INTRODUCCIÓN.....	11
CAPITULO I: EL PROBLEMA	13
1.1. Planteamiento del problema	13
1.2. Formulación del problema.....	15
1.2.1. Problema general	15
1.2.2. Problemas específicos.....	15
1.4. Justificación de la investigación	16
1.4.1 Teórica.....	16
1.4.2 Metodológica.....	16
1.4.3 Práctica	17
1.5. Limitaciones de la investigación	17
1.5.1 Temporal.....	17
1.5.2 Espacial.....	17
1.5.3 Unidad de Análisis.	17
CAPITULO 2: MARCO TEÓRICO	18

2.1. Antecedentes.....	18
2.2. Bases teóricas	21
2.3 Formulación de hipótesis.....	37
2.3.1 Hipótesis general	37
2.3.2 Hipótesis específicas.....	38
CAPITULO 3: METODOLOGÍA.....	39
3.1. Método de la investigación.....	39
3.2. Enfoque de la investigación.....	39
3.3. Tipo de investigación	39
3.4. Diseño de la investigación.....	40
3.5. Población, Muestra y muestreo	41
3.6. Variables y operacionalización.....	43
3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	45
3.7.1. Técnica.....	45
3.7.2. Descripción de instrumentos	46
3.7.3. Validación y Confiabilidad.....	54
3.8. Plan de procesamiento y análisis de datos.....	55
3.9. Aspectos éticos	55
CAPITULO 5. RESULTADOS	56
4.1 Resultados.....	56
4.1.1. Análisis descriptivo de resultados	56
4.1.2. Prueba de hipótesis	61
4.1.3. Discusión de resultados	67
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	69
5.1 Conclusiones.....	69
5.2 Recomendaciones	70

5. REFERENCIAS	71
Anexos	78
Anexo 1: Matriz de consistencia	78
Anexo 2. Ficha de recolección de datos	83
Anexo 3. Validez de instrumento	84
Anexo 4: Aprobación de comité de ética	86
Anexo 5: Constancia de Exoneración.....	88
Anexo 6: Carta de aprobación de la institución para la recolección de datos.....	89
Anexo 7: Programa de intervención.....	90
Anexo 8: Resultados.....	99
Anexo 9: Informe del asesor de turnitin.....	101
Anexo 10: Fotos.....	102

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Actividad antimicrobiana del AEE SP sobre el crecimiento de PG	56
Tabla 2. Efecto antibacteriano del AEE SP sobre el crecimiento de PG mediante el método de difusión en agar usando 100% de aceite	56
Tabla 3. Efecto antibacteriano del AEE SP sobre el crecimiento de PG mediante el método de difusión en agar usando 50% de aceite	57
Tabla 4. Efecto antibacteriano del AEE SP sobre el crecimiento de PG mediante el método de difusión en agar usando 25% de aceite	58
Tabla 5. Efecto antibacteriano del AEE SP sobre el crecimiento de PG mediante el método de difusión en agar usando 12.5% de aceite	59
Tabla 6. Actividad antimicrobiana de la Clorhexidina al 0.12% frente a <i>Porphyromonas gingivalis</i>	60
Tabla 7. Comparación de la actividad antimicrobiana del AEE SP con la clorhexidina frente a PG	¡Error! Marcador no definido.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Gráfico de columnas de la actividad antimicrobiana del AEE SP sobre el crecimiento de PG	56
Figura 2. Gráfico de histograma del efecto antibacteriano del AEE SP sobre el crecimiento de PG mediante el método de difusión en agar usando 100% de aceite	57
Figura 3. Gráfico de columna del efecto antibacteriano del AEE SP sobre el crecimiento de PG mediante el método de difusión en agar usando 50% de aceite	58
Figura 4. Gráfico de columna del efecto antibacteriano del AEE SP sobre el crecimiento de PG mediante el método de difusión en agar usando 25% de aceite	59
Figura 5. Gráfico de columna del efecto antibacteriano del AEE SP sobre el crecimiento de PG mediante el método de difusión en agar usando 12.5% de aceite	60
Figura 6. Gráfico de columnas de la actividad antimicrobiana de la Clorhexidina al 0.12% frente a PG	61
Figura 7. Gráfico de medias de la actividad antimicrobiana del AEE SP con la clorhexidina frente a PG	63

Resumen

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo: Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto según el halo de inhibición en concentraciones de 100, 50, 25 y 12.5% comparado a la “clorhexidina al 0,12% frente a la *Porphyromonas gingivalis*”; con una metodología hipotética- deductiva, utilizando un enfoque cuantitativo, de tipo básica y de diseño experimental, la población estará compuesta por tres grupos consistente en dieciocho placas Petri con cepas de *Porphyromonas gingivalis* recopilados en una muestra de 10 placas Petri en un muestreo será de tipo probabilístico intencional, los resultados de la prueba de Friedman en todos los resultados se presenta un p. valor de 0.000 (< al 0.05%). Concluyendo que si existe diferencia significativa del efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto según el halo de inhibición en concentraciones de 100, 50, 25 y 12.5% comparado a la clorhexidina al 0,12% frente a la *Porphyromonas gingivalis*.

Palabras clave: actividad antimicrobiana, aceite esencial de *Eucalyptus* sp., *Porphyromonas gingivalis*, halo de inhibición

Abstract

The present research work had as objective: To determine the antibacterial effect of Eucalyptus essential oil according to the inhibition halo at concentrations of 100, 50, 25 and 12.5% compared to 0.12% chlorhexidine against *Porphyromonas gingivalis*; With a hypothetical-deductive methodology, using a quantitative approach, basic type and experimental design, the population will be composed of three groups consisting of eighteen Petri dishes with strains of *Porphyromonas gingivalis* collected in a sample of 10 Petri dishes in a sampling will be of an intentional probabilistic type, the results of the Friedman test in all the results a p. value of 0.000 ($<0.05\%$) is presented. Concluding that there is a significant difference in the antibacterial effect of Eucalyptus essential oil according to the inhibition halo at concentrations of 100, 50, 25 and 12.5% compared to 0.12% chlorhexidine against *Porphyromonas gingivalis*.

Keywords: antimicrobial activity, Eucalyptus sp. essential oil, *Porphyromonas gingivalis*, inhibition zone

INTRODUCCIÓN

La *Porphyromonas gingivalis* (PG), una diminuta criatura anaerobio gramnegativa, ha sido catalogada como uno de los principales culpables de la periodontitis persistente. La devastadora capacidad de esta bacteria radica en su habilidad para generar enzimas y factores de violencia que destruyen los tejidos periodontales y perturban la respuesta inmune del visitante. La tenacidad y la tenacidad de los tejidos periodontales son un reto crucial en la terapia de dolencias periodontales. Así, se ha impulsado la búsqueda de agentes antimicrobianos poderosos que frenen el desarrollo y la metamorfosis de estos diminutos seres. Evaluar la capacidad antimicrobiana de PG abre la puerta a descubrir tratamientos innovadores y a complementar los tratamientos habituales para enfrentar este invasor con eficacia.

El aceite esencial de *Eucalyptus* sp (AEE SP). es un recurso esencial tanto en el ámbito de la aromaterapia como en el de la cosmética, se extrae de manera natural, principalmente de las hojas del eucalipto mediante procesos como la destilación. El aceite de oliva se distingue por su poder antibacteriano, antiinflamatorio y antioxidante, gracias a la acción de compuestos bioactivos como el cineol, el limoneno y los taninos. En el ámbito dental, su habilidad para frenar la proliferación de bacterias periodontales invasoras como la PG ha despertado curiosidad. Por su naturaleza, es menos peligroso que los fármacos convencionales, lo que lo convierte en una opción terapéutica prometedora para combatir las infecciones bucales.

El gluconato de clorhexidina es un compuesto químico ampliamente utilizado en el ámbito médico y odontológico debido a sus propiedades antisépticas y antimicrobianas, es un compuesto químico que se emplea extensamente en el campo de la odontología debido a sus propiedades como agente antiséptico y antimicrobiano. Este compuesto actúa al alterar las membranas celulares de las bacterias, provocando la liberación de componentes internos esenciales y, por último, la muerte de la célula. Con una concentración típica del 0,12%, se le reconoce como el referente principal en el control químico del biofilm dental y las infecciones periodontales, gracias a su amplio espectro antimicrobiano y su efectividad prolongada. Sin embargo, el uso prolongado de este producto podría desencadenar efectos adversos como la descoloración de los dientes y alteraciones en la percepción del gusto. Esta

circunstancia ha incitado la búsqueda de alternativas naturales que puedan complementar o sustituir su acción.

En la actualidad, el control de enfermedades infecciosas representa un desafío cada vez mayor, ya que se han detectado bacterias que muestran resistencia a los tratamientos antimicrobianos convencionales. En el presente contexto, el primer capítulo del presente estudio se centra en el problema de investigación, resaltando la importancia de la evaluación de opciones terapéuticas ante PG una bacteria vinculada a patologías periodontales. En primer lugar, se plantea el problema a investigar, seguido de la formulación de los objetivos del estudio. Posteriormente, se argumenta la justificación de la investigación, resaltando su relevancia en la creación de estrategias más eficaces y seguras. Asimismo, se identifican las restricciones que podrían impactar en la amplitud de la investigación.

En el segundo capítulo de esta investigación se muestran las bases teóricas y prácticas que la apoyan. Se detallan antecedentes importantes sobre el uso del AEE SP. El 0,12% de gluconato de clorhexidina se usa como agente antimicrobiano. Las bases teóricas se concentran en los caminos de acción de los compuestos y su acción frente a microorganismos peligrosos. También, se da una suposición que guía la investigación donde se establecen las expectativas científicas que se investigan.

En el tercer capítulo se describe la forma utilizada para demostrar los objetivos de la investigación. En el estudio se explica el método, enfoque y diseño usados, junto con las formas usadas para recoger y estudiar los datos. En este acápite se detalla la población, muestra y proceso para asegurar la precisión científica. También se detalla la parte ética, asegurando el respeto a los principios morales del estudio.

En los capítulos cuarto y quinto del trabajo académico, se exponen los resultados obtenidos y se lleva a cabo su correspondiente discusión. En este análisis se examinan los hallazgos a la luz de la literatura revisada y los objetivos establecidos previamente. En último lugar, se presentan las conclusiones y recomendaciones del estudio, resaltando las implicaciones prácticas del mismo y sugiriendo posibles áreas de investigación futuras que puedan promover el progreso en el tratamiento de infecciones periodontales mediante el uso de alternativas naturales.

CAPITULO I: EL PROBLEMA

1.1. Planteamiento del problema

El microbioma oral humano es una red microbiana muy diversa que está en constante interacción tanto con su huésped como con el entorno que lo rodea. Cuando el microbioma oral está en un estado de equilibrio, es estable y en un estado de mutualismo con su huésped. No obstante, la alteración de este balance por elementos del entorno puede desencadenar una disbiosis en las biopelículas, lo cual puede desencadenar dolencias orales, como la periodontitis y las caries. (1)

La película oral es una comunidad de gérmenes muy complicada que se encuentra en la naturaleza. El biofilm dental, también llamado película, está muy común entre la gente del mundo. Si no se trata el comienzo de la película dental, puede salir la aparición de diferentes problemas en la boca, que incluyen, entre otros, agujeros en los dientes y encías inflamadas. Estas enfermedades son muy comunes en el área de salud de la boca.. (2)

Es bien sabido que las dolencias bucales predominan más entre los varones que en las damas. Esta disparidad se explica por la mayor frecuencia con la que las mujeres se someten a exámenes dentales, lo que reduce la aparición de problemas periodontales como placa bacteriana, cálculo y sangrado en las encías. Estos elementos actúan como brújulas para detectar la dolencia periodontal (3)

La presencia de *Porphyromona gingivalis* (PG) varía en diferentes partes del mundo. La prevalencia en Asia es de aproximadamente el 30%, mientras que en Japón oscila entre el 60 y el 95%. En China es del 70%, en Brasil es del 78%, en Estados Unidos es del 87% y en América es del 50%. La presencia de este pequeño ser dentro de la boca de las personas lo hace un problema global. Es una razón principal de la enfermedad de las encías, un dolor

que genera desgaste y pérdida de hueso en los dientes. Cerca del 70% del mundo padece esta dolencia mundial. (4)

La bacteria *PG* se ve como la gran causa de periodontitis crónica en adultos, lo que la pone como un contribuyente clave a la alta tasa de esta enfermedad. Por su habilidad para empezar y hacer crecer la periodontitis, la bacteria puede dañar la boca de muchas personas que necesitan tratamiento con prótesis fijas o removibles. A pesar de esto, también se ha hallado la bacteria en personas sanas y quienes han tenido trato después del periodontal.. (5)

Los tratamientos a dichas infecciones consisten en el uso de sustancias químicas y agentes antimicrobianos los cuales actúan principalmente sobre la adherencia bacteriana, en la inhibición del crecimiento microbiano, etc. Entre aquellas sustancias se encuentran antibióticos, enzimas, antisépticos, entre otros, siendo los más conocidos entre estos el antimicrobiano “Amoxicilina” y el antiséptico “Clorhexidina” siendo utilizados como los agente más efectivo frente a la gingivitis y a la formación de películas, además de su uso como tratamiento a infecciones dentarias (6, 7)

Sin embargo, en fechas recientes se han anotado muchos casos de resistencia antimicrobiana, un reto mundial en el que los expertos en salud de la boca tienen un rol clave en la prevención y seguimiento del buen uso de productos antisépticos y antimicrobianos (8) Por ende, las últimas investigaciones se centran en la búsqueda de alternativas como extractos etanólicos o aceites esenciales de especies vegetales que tengan el potencial antimicrobiano para ser usado en tratamientos periodontales. Ante la problemática expuesta, la presente investigación pretende demostrar si el AEE SP. (Eucalipto) posee aquella virtud antibacteriana, además de comparar aquel efecto con un antimicrobiano comercial como la clorhexidina.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿Cuál es el efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto según el halo de inhibición en concentraciones de 100, 50, 25 y 12.5% comparado a la clorhexidina al 0,12% frente a la Porphyromonas gingivalis?

1.2.2. Problemas específicos

¿Cuál es el efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto frente a Porphyromonas gingivalis, según halo de inhibición usando una concentración del 100%?

¿Cuál es el efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto frente a Porphyromonas gingivalis,, según halo de inhibición usando una concentración del 50%?

¿Cuál es el efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto frente a Porphyromonas gingivalis,, según halo de inhibición usando una concentración del 25%?

¿Cuál es el efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto frente a Porphyromonas gingivalis,, según halo de inhibición usando una concentración del 12.5%?

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo general

Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto según el halo de inhibición en concentraciones de 100, 50, 25 y 12.5% comparado a la clorhexidina al 0,12% frente a la Porphyromonas gingivalis

1.3.2 Objetivos específicos

Establecer el efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto frente a Porphyromonas gingivalis, según halo de inhibición usando una concentración del 100%

Establecer el efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto frente a *Porphyromonas gingivalis*, según halo de inhibición usando una concentración del 50%

Establecer el efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto frente a *Porphyromonas gingivalis*, según halo de inhibición usando una concentración del 25%

Establecer el efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto frente a *Porphyromonas gingivalis*, según halo de inhibición usando una concentración del 12.5%

1.4. Justificación de la investigación

1.4.1 Teórica

En el ámbito teórico, puede abrirnos las puertas a una comprensión más profunda de las sustancias irrigadoras que, además de combatir las bacterias, son perfectamente biocompatibles. Las sustancias actualmente utilizadas han demostrado ser ventajosas; sin embargo, también representan una amenaza significativa debido a sus altos niveles de toxicidad, que a menudo conducen a la necrosis por infiltración durante los tratamientos. Por lo tanto, se justifica la consideración de la clorhexidina y el AEE SP, ya que la investigación científica ha demostrado su eficacia antibacteriana, biocompatibilidad y falta de daño tisular.

1.4.2 Metodológica

La implantación de estas sustancias en los procedimientos odontológicos supondría un cambio radical a las prácticas que estamos acostumbrados en el trabajo odontológico.

1.4.3 Práctica

Al utilizar clorhexidina y AEE SP, sería posible prevenir accidentes relacionados con la infiltración y la toxicidad que pueden ocurrir a nivel de tejido durante el tratamiento.

1.5. Limitaciones de la investigación

1.5.1 Temporal

La investigación experimental, en la etapa de recopilación de datos, se realizará de manera sistemática y rigurosa durante el período comprendido entre el mes de septiembre y octubre del año 2024, en estricta conformidad con las directrices establecidas por las entidades competentes en la materia.

1.5.2 Espacial

En el laboratorio de microbiología de la facultad de odontología de la Universidad Norbert Wiener se llevará a cabo la fase experimental, junto con la fase teórica y metodológica.

1.5.3 Unidad de Análisis.

La creación, desarrollo y ejecución de esta investigación son de propiedad exclusiva e intransferible. Las diferentes cepas de bacterias serán minuciosamente analizadas y estudiadas en profundidad en el prestigioso Laboratorio de Microbiología de la reconocida Facultad de Ciencias.

CAPITULO 2: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Alejo y Pineda (9) en su estudio determinaron como objetivo determinar la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” en comparación con la clorhexidina al 0,12% sobre la PG. El estudio llevado a cabo abarcó desde la explicación hasta la experimentación, utilizando un enfoque prospectivo, longitudinal y analítico. El estudio incluyó diez placas de cultivo *Muller Hilton* que fueron moldeadas con PG. Los hallazgos revelaron una notable disparidad en la eficacia antibacteriana de *Minthostachys mollis* "muña" de Ingenio y de Tarma, cuando se contrastó con Clorhexidina al 0,12% en PG.

Alarcón (10) tuvo como objetivo determinar si el extracto hidroalcohólico de coca, el gluconato de clorhexidina y la sangre de grado son efectivos para reducir el diámetro del halo inhibitorio alrededor de cepas probadas de PG. Para alcanzar la meta propuesta, el escritor utilizó la técnica de susceptibilidad del disco de *Kirby-Baner* para evaluar cómo PG reacciona al extracto hidroalcohólico de coca (25%, 50% y 100%) y al gluconato de clorhexidina al 0,12%, 100. Fluido vital y una pizca de bicarbonato de sodio. Posteriormente, la sustancia se esparció con vigor sobre los estímulos y los filtros. La investigación estadística se fundamentó en frecuencias, tendencias centrales y dispersiones. El enfoque seleccionado para el estudio fue ANOVA en un sentido único. El estudio revela que PG muestra una notable sensibilidad al gluconato de clorhexidina, alcanzando un asombroso 0,12%. Asimismo, el jugo hidroalcohólico de coca reveló una sensibilidad absoluta hacia la PG. El análisis estadístico reveló una notable disparidad en el efecto de estas sustancias en la región de freno de las cepas aprobadas de PG.

Muñoz (11) el objetivo de la presente investigación es comparar la eficacia antimicrobiana del extracto de arándano en diferentes concentraciones con clorhexidina ambos frente a PG como principal agente etiológico de la enfermedad periodontal. El estudio empleó un diseño experimental transversal e *in vitro*. Los extractos de arándano Biloxi se hicieron por maceración, lo que asegura una mezcla pura. Se crearon entornos para crecer con agar sangre y se reactivaron tipos de PG. Se usaron discos llenos con las cosas para hacer las biopelículas de PG usando el método de Kirby Bauer. Los extractos se usaron en mezclas 1:1 con el extracto puro y sus soluciones durante 24 y 96 horas. La cantidad mínima que para; se puso como referencia para ver lo bien que funciona la clorhexidina. El estudio vio que el arándano rojo tiene formas nuevas de usarse como ayuda para cambiar la acción dañina de bacterias como la PG.

Barrak et al. (12) tuvo por objetivo comparar la eficacia descontaminante de diferentes agentes químicos sobre una superficie de titanio contaminada con PG representante típico de la flora bacteriana asociada a la periimplantitis. Antes de aplicarles un enjuague bucal con digluconato de clorhexidina (0,1%), solución de povidona yodada (10%) o monohidrato de ácido cítrico (40%), se pulieron discos de Ti de grado 4. Para evaluar la efectividad de cada agente, llevamos a cabo un análisis ANOVA unidireccional (utilizando el análisis post hoc de Tukey) y estadísticas descriptivas entre los grupos seleccionados por el tratamiento químico. Después de seis jornadas de incubación, observamos una notable variación en la cantidad de PG. Es importante destacar que el grupo sometido a clorhexidina (CHX) mostró una mayor proliferación de PG en comparación con el grupo sometido a PVP yodada ($P = 0,032$), mientras que los grupos control y ácido cítrico no mostraron diferencias significativas. En pocas palabras, nuestra investigación reveló que el yodo-PVP, al igual

que el ácido cítrico y la solución de clorhexidina, es un depurador más poderoso que el ácido cítrico y la clorhexidina en casos de infección por PG en una superficie de titanio in vitro.

Alvarez y Gutierrez (13) presentan su investigación que tiene como objetivo evaluar la actividad bactericida del aceite esencial de *Origanum spp.* (Orégano) y *Croton lechleri* (Sangre de Grado) en la bacteria periodontal patógena PG, comparándola con gluconato de clorhexidina, producto de uso frecuente en periodoncia, en solución al 0,12 y 0.2%. Para *Origanum sp.*, la inhibición es casi inexistente. El aceite esencial alcanzó un 6,25%, mientras que su capacidad bactericida máxima alcanzó un 12,5%. En cambio, se descubrió que el látex de *Croton lechleri* tuvo una capacidad inhibitoria del 20% y una capacidad bactericida del 30%. Un estudio sobre la eficacia bactericida y bacteriostática de estas sustancias frente a PG reveló que tanto el aceite esencial de orégano al 12,5% como el de sangre al 30% poseen una capacidad bactericida superior, superando al gluconato de clorhexidina al 0,12% y al 0,2%, respectivamente.

Ramos (14) En su investigación tuvo como objetivo determinar la actividad antimicrobiana del extracto de *Erythroxylum coca* sobre una cepa de PG. En el presente estudio se evaluaron concentraciones de 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.13%, 1.56%, 0.78%), los resultados obtenidos presentaron inhibición de crecimiento de la bacteria a través de halos alrededor de cada concentración de extracto de coca. Determinaron además la CMI en la concentración correspondiente a 6.25% siendo esta la concentración más baja en la que se inhibió en su totalidad el crecimiento de la cepa bacteriana.

2.2. Bases teóricas

Enfermedades periodontales

Son un grupo de infecciones halladas en las encías y los elementos de sostén dental. Típicamente, causadas por gérmenes cuyo origen es la placa bacteriana. Además, debido a muchos motivos del organismo o los microorganismos puede empeorar la enfermedad, bacterias como *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, etc. Actualmente estas infecciones se tratan con fármacos antimicrobianos. (15)

Las enfermedades periodontales, o afecciones de las encías, son problemas en los que se inflaman los tejidos que ayudan a mantener los dientes en su lugar. Esto incluye las encías, los ligamentos y el hueso alveolar. También se presenta sangrado, retroceso de encías, movimientos en el diente o perder dientes en algunos casos muy serios. Es muy importante tener una buena limpieza de boca y visitar al dentista seguido para evitar o ayudar estas afecciones.

Entre las enfermedades de encías más comunes están la gingivitis que tiene inflamación y sangrado en las encías, y la periodontitis, una condición peor que puede destruir el hueso alrededor y en etapas avanzadas, perder dientes. Varios factores tales como una mala limpieza bucal mala, fumar hábito, tener diabetes y una base genética pueden subir mucho más alto el riesgo de tener estas afecciones bucales

Sustancias antimicrobianas

Los agentes presentes en sustancias antimicrobianas pueden tener su origen de manera sintética, semi sintética y natural las cuales tendrán como finalidad la inhibición del crecimiento de microorganismos como bacterias, hongos, virus, etc. En tiempos recientes, la

ciencia ha estado explorando otros agentes con capacidad antibacteriana para hallar una alternativa natural a los medicamentos tradicionales (16)

Los medicamentos antimicrobianos, ya sean hechos químicamente o naturalmente, tienen la propiedad de detener el desarrollo o eliminar microorganismos como bacterias, virus, hongos y parásitos de muchos tipos. Estos pueden ser divididos en varias categorías según el tipo de microorganismo que atacan: antibióticos, antifúngicos, antivirales y antiparasitarios.

Cada uno de estos medicamentos tiene un trabajo concreto para combatir infecciones causadas por bacterias, hongos virus o parásitos. Estos productos químicos trabajan de diferente forma. Se usan mucho en el área de medicina para ayudar con varias infecciones, en las comidas como formas de cuidar para hacer durar más los productos y en varios artículos de baño para detener el crecimiento de bacterias malas. Sin embargo, es necesario recordar que usar demasiados antibióticos puede llevar a crear resistencia en los microorganismos lo que hace que se bajen su eficiencia con el tiempo.

Fitoterapia

Este método terapéutico consiste en el uso de aceites vegetales con el fin de complementar o sustituir agentes sintéticos, pues se puede generar resistencia a estos. Los principales usos que se le da a la fitoterapia son antibacterianos, antimicóticos, antiinflamatorios, antioxidantes, antisépticos. En la actualidad, se utiliza en quimioterapia en periodoncia sobre la formación de biofilm y patógenos presentes en la placa supragingival, principalmente por la capacidad que poseen como antiinflamatorios. (17, 18)

La fitoterapia se encarga de investigar detalladamente el empleo terapéutico de una amplia variedad de plantas medicinales, así como de sus compuestos y extractos, con el objetivo de prevenir, aliviar y tratar eficazmente una amplia gama de enfermedades y trastornos de diversa índole. Se fundamenta en el conocimiento ancestral acumulado a lo largo de

generaciones y en la rigurosa evidencia científica para utilizar una amplia variedad de compuestos activos de procedencia vegetal que poseen destacadas propiedades terapéuticas, tales como flavonoides, alcaloides, taninos y aceites esenciales.

Las diferentes preparaciones pueden ser elaboradas en variadas formas, tales como infusiones, extractos, tinturas, cápsulas o incluso comprimidos, según las propiedades del principio activo y el propósito deseado. La medicina alternativa se presenta como una opción adicional, que puede ser utilizada de manera conjunta o como un recurso complementario a los tratamientos convencionales prescritos por profesionales de la salud. Esta práctica se enfoca en abordar diversas afecciones, tales como trastornos gastrointestinales, procesos inflamatorios, desórdenes del ciclo de sueño y patologías respiratorias.

Aceite esencial de especies vegetales

Los aceites esenciales, según la vasta literatura, revelan su poder antimicrobiano, frenando la proliferación de microorganismos nocivos. Los informes revelan que los aceites esenciales de plantas como el orégano, la hierba buena, la menta, el clavo de olor, el limón, la mandarina y el eucalipto poseen la habilidad de traspasar la membrana de las bacterias y adentrarse en el interior de la célula, permitiendo así combatir a patógenos orales. (19)

Los aceites esenciales de varias plantas son sustancias volátiles muy concentradas, Estos aceites tienen una selección de principios activos con cualidades medicinales, aromáticas y antimicrobianas, lo que los hace ingredientes apreciados en campos como la aromaterapia; cosmética medicina natural o industria alimentaria. Dependiendo la fuente botánica de la planta es posible que los aceites tengan propiedades como antiinflamatorias relajantes antisépticas o estimulantes.

Un ejemplo es el aceite de eucalipto, que es valorado por sus beneficios para tratar problemas respiratorios. Es esencial recordar que el uso de este producto debe estar bajo observación constante, ya que una alta cantidad del mismo podría producir resultados inesperados si no se diluye bien o se da en cantidades incorrectas.

Aceite esencial de *Eucalyptus* sp.

Es una sustancia obtenida de especies vegetales pertenecientes al grupo de *Eucalyptus* sp a través de técnicas como arrastre de vapor en destiladores de aceites esenciales. El uso de esta planta viene del potencial que esta posee como antiinflamatoria, antioxidante y antimicrobiano siendo considerada así una planta antiséptica. Otro punto a favor de esta sustancia es que no es tóxica para mamíferos en general, se puede realizar con pocos recursos y además, no es un cultivo que se encuentre dentro de peligro de conservación. (20, 21)

Es comúnmente empleado en el tratamiento de diversas afecciones respiratorias tales como resfriados comunes, bronquitis aguda y sinusitis crónica, debido a su capacidad para despejar eficazmente las vías respiratorias y proporcionar alivio inmediato de la congestión nasal.

Además, este compuesto químico posee propiedades antisépticas que resultan beneficiosas para la salud bucal y cutánea, por lo que se usa en la fabricación de diversos productos destinados al cuidado e higiene personal. No obstante, es importante tener en cuenta que su aplicación debe ser realizada de manera mesurada, dado que en niveles altos de concentración podría resultar irritante o incluso llegar a ser potencialmente tóxico en caso de ser ingerido en cantidades significativas.

Composición química del aceite de Eucalipto

Según análisis realizados por técnicas como Cromatografía de gases se puede identificar la composición de un aceite esencial. Por ejemplo, 1,8-Cineol o Eucaliptol alrededor de un 80% en estas especies vegetales, además de otros compuestos como Alfa-Pineno, Limoneno, Copaeno, Linalol, Mirceno, etc., que presentan según la bibliografía actividad antimicrobiana frente a bacterias patógenas. (22)

Actividad antimicrobiana del AEE SP frente a bacterias patógenas

Investigaciones realizadas revelan la capacidad del Eucalipto para combatir bacterias patógenas, como *Streptococcus mutans*, y examinan su capacidad antimicrobiana mediante técnicas como la difusión en pozos y las microdiluciones en pocillos, con el propósito de calcular la concentración mínima inhibitoria (CMI). (23)

Es conocido por sus propiedades aromáticas y terapéuticas, que pueden ser beneficiosas para la salud. Se obtiene a través del proceso de destilación de las hojas de la planta *Eucalyptus*, la cual es nativa de Australia y se ha utilizado tradicionalmente en la medicina natural. Presenta una actividad antimicrobiana sumamente potente frente a una amplia variedad de bacterias patógenas, gracias a su elevada concentración de 1,8-cineol (también conocido como eucaliptol) y otros componentes bioactivos como el α -pineno y el terpineno-4-ol. Su mecanismo de acción consiste en desestabilizar la membrana celular, lo cual resulta en la inhibición de la respiración bacteriana y en la afectación de la replicación del ADN.

Su aplicación en una amplia variedad de productos antisépticos, enjuagues bucales y soluciones inhalatorias lo convierte en una alternativa natural altamente prometedora para el tratamiento efectivo de diversas infecciones, especialmente en un contexto de creciente resistencia antibiótica.

La Clorhexidina: Características y actividad antimicrobiana de la clorhexidina

La clorhexidina es una molécula activa que se hace más estable cuando se convierte en un sal. Las dos formas de sal son el digluconato de clorhexidina con efecto antimicrobiana y el dihidrocloruro de clorhexidina con efecto sobre el intestino. El digluconato de clorhexidina es un tipo de desinfectante común, utilizado en productos para salud de gente y animales. La molécula del clorhexidina fue encontrada en años 40 durante investigación sobre agentes que luchan contra malaria; introducida después en mercado como un antiséptico en años 50 por Imperial Chemical Industries en Manchester, Reino Unido y muy usada ahora como antiséptico para lesiones cutáneas en forma del digluconato de clorhexidina.. (24)

Con peso molecular 505.45 g/mol, con porcentaje de composición C 52.28%, H 5.98%, Cl 14.03% y N 27.71%, con pH de 5.5 a 7.0, tiene características importantes que amplían su uso en muchos segmentos del mercado con baja toxicidad, no tiene absorción cutánea, no es absorbido por el cuerpo cuando se ingiere, tiene acción cicatrizante, no deja residuos, inodoro, incoloro, no corrosivo, no volátiles y biodegradables. Tiene la característica de ser anfótero, pudiendo actuar como ácido o base, tiene total solubilidad en agua, y tiene incompatibilidad con los tensioactivos aniónicos. El mecanismo de acción del digluconato de clorhexidina se da porque es una molécula dicatiónica, por lo que un extremo de la molécula se adhiere a la película adquirida que recubre la superficie del diente y estructuras de la cavidad oral, mientras que el otro ejerce su acción sobre los microorganismos. La clorhexidina, atraída por la carga negativa de la superficie bacteriana, se adentra en la membrana celular mediante interacciones electrostáticas, quizás por enlaces hidrofóbicos o puentes de hidrógeno, dependiendo de su concentración. De esta manera, a dosis elevadas causa un daño irreversible en la célula bacteriana, desencadenando la precipitación y coagulación de proteínas citoplasmáticas, y, a dosis más bajas, se compromete la membrana

celular mediante la inhibición de enzimas glucolíticas y proteolíticas, desembocando en la extravasación de fragmentos celulares de menor peso molecular. Así, el uso de clorhexidina asociado a la remoción mecánica del biofilm dental disminuye la colonización por patógenos orales y respiratorios que pueden colonizar la cavidad oral. (25)

La clorhexidina, con una cantidad de 0,01 miligramos, también detuvo la habilidad de las bacterias para romper proteínas, según un estudio con muestras de placa debajo del diente de personas que tienen periodontitis crónica. Esta cualidad cambia la forma de la placa de bacterias o biopelícula dental, que necesita comida para crecer. Del mismo modo, la capacidad de la clorhexidina para sujetarse al diente disminuye el aumento de las bacterias en el biofilm, ayudando así a su efecto en contra de los microorganismos y matándoles, con lo cual se previene el desarrollo de caries y la enfermedad periodontal.

Es una importante biguanida catiónica que actúa de manera efectiva alterando la permeabilidad de la membrana celular microbiana, lo que conlleva a la salida de componentes intracelulares esenciales y posteriormente la muerte celular. Su actividad es altamente efectiva inhibiendo bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, aunque destaca su mayor eficacia frente a las primeras, incluyendo *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus mutans*, dos de los microorganismos más comunes en infecciones bacterianas. Además, este medicamento también cuenta con propiedades de combate contra hongos y virus en determinadas circunstancias.

Se utiliza ampliamente en enjuagues bucales, desinfectantes quirúrgicos y antisépticos para heridas, gracias a su notable efecto residual prolongado y persistente, que permite una acción antimicrobiana continua e ininterrumpida incluso después del enjuague inicial. No obstante, es importante tener en cuenta que el uso continuado de este producto puede ocasionar efectos secundarios no deseados, tales como la aparición de manchas en el esmalte dental o cambios

en la percepción del sabor. Por lo tanto, se aconseja aplicarlo de manera moderada y controlada.

El estudio de cómo la clorhexidina afecta hongos es menos común y tiene resultados diversos en los textos, pero muestra señales de que funciona. El año 1,999, el método de acción de la clorhexidina para los hongos es muy parecido al de las bacterias, así que el hongo coge la molécula de clorhexidina lo que desgasta la pared celular y membrana plasmática cuando entra al citoplasma lo cual hace que se pierda contenido celular.

La clorhexidina tiene propiedades antimicrobianas de larga duración debido a su capacidad para unirse de forma reversible a las superficies dentales, la hidroxiapatita, las membranas celulares y las mucinas salivales, y puede desconectarse de estas estructuras aumentando el gradiente de concentración. (26)

La clorhexidina permite su absorción a compuestos aniónicos como glicoproteínas salivales, radicales, fosfatos y ácidos carboxílicos presentes en el biofilm dental, película dental y macromoléculas presentes en la boca, por lo que esta propiedad favorece la retención de aproximadamente el 30% de la clorhexidina en la boca. después del enjuague bucal. Debido a la posibilidad de formar reservas de clorhexidina en la superficie dental, y ser liberada lentamente, existe un efecto positivo que influye en la prevención de la colonización bacteriana y el desarrollo de biopelícula, siendo esta característica conocida por la propiedad de sustentividad.

Además de la superficie del diente, la molécula de clorhexidina también tiene la propiedad de retentividad a las encías y a la mucosa bucal por afinidad a la membrana celular de las células de las mucosas orales, con esto hay una conservación de su efecto, retrasando su tiempo de acción en relación con el flujo salival. Después de su administración a través de enjuagues bucales, la clorhexidina sufre la acción del flujo salival y aclaramiento salival,

disminuyendo su concentración en un corto período de tiempo. Hay una alta concentración en la cavidad oral poco tiempo después del uso, y luego hay una pérdida de concentración que está influenciada por factores como la formulación, las propiedades químicas y físicas del agente, además de la biología y la higiene bucal de cada individuo.

Así, después del enjuague con clorhexidina, la saliva por sí sola exhibe la actividad antimicrobiana de la clorhexidina hasta por 5 horas, mientras que la clorhexidina retenida en la mucosa oral permanece liberada en la cavidad bucal durante 12 horas. La concentración de clorhexidina para uso en la cavidad oral puede variar entre 0,12%, 0,2% y 2%, mostrando la concentración al 2% mejores efectos en el control del crecimiento bacteriano, pero a esta mayor concentración o en uso prolongado se asocia con la aparición de efectos adversos. Debido a su eficacia y seguridad de uso, el digluconato de clorhexidina fue considerado en 1997 el estándar de oro antiséptico *in vitro/vivo* por la OMS. (27)

Indicaciones y formas farmacéuticas con clorhexidina

En odontología, la clorhexidina tiene varias formas de presentación, con el objetivo de reducir el desarrollo de placa bacteriana o biofilm dental, además de prevenir la enfermedad periodontal y la caries. En este contexto, las formas de presentación farmacéutica más comunes del digluconato de clorhexidina son soluciones orales, dentífricos con clorhexidina, así como soluciones en geles y barnices con clorhexidina. El uso de clorhexidina en odontología tiene un número significativo de indicaciones con períodos cortos de aplicación indicados cuando la higiene mecánica no es posible, difícil o inadecuada, como después de cirugías orales, en ulceraciones orales recurrentes, en el tratamiento de estomatitis, o durante el tratamiento de infecciones orales. Para periodos cortos intermitentes o periodos medios para pacientes con mala higiene bucal, discapacidades físicas o psíquicas, con alto riesgo de

caries, con aparatos de ortodoncia o rehabilitación protésica extensa o con compromiso médico con predisposición a infecciones bucales. Y, sin embargo, durante largos periodos de aplicación en diferentes concentraciones para pacientes con problemas sistémicos graves con riesgo de infecciones orales.

El uso de clorhexidina en solución al 0,12% o al 0,2% son las formas farmacéuticas más utilizadas con indicaciones para prevenir la formación de biopelícula dental, controlar la gingivitis y controlar infecciones posquirúrgicas. La solución para enjuague bucal a una concentración de 0,12% es la más utilizada porque es eficaz y tiene menos efectos adversos, y es fácil de usar por los pacientes. También está indicado para su uso en pacientes con limitaciones motoras, discapacitados mentales, portadores de aparatos de ortodoncia, pacientes geriátricos y pacientes hospitalizados, además de para desinfectar cepillos de dientes. La solución al 2% se utiliza para la descontaminación de la superficie dentinaria antes de restauraciones o cementaciones de prótesis, para la descontaminación de conductos radiculares en endodoncia y para su uso como descontaminante externo antes de procedimientos quirúrgicos en la cavidad oral. (28)

La clorhexidina, en su versión oral al 0,12%, se ha convertido en una herramienta esencial para monitorear la microbiota orofaríngea en pacientes en estado crítico, especialmente en aquellos intubados con un tubo endotraqueal. El uso común de la solución de clorhexidina en limpiar la boca de pacientes en la unidad de cuidados intensivos, sobre todo bajo ventilación mecánica con un tubo endotraqueal, baja la reproducción de bacterias dañinas en la boca y por ende los peligros de tener neumonía después del ingreso al hospital. El uso de clorhexidina en dentífricos para el control del biofilm supragingival tiene limitaciones, ya que la interacción de la clorhexidina con los productos utilizados en la formulación de los dentífricos puede reducir su acción antimicrobiana. Esta condición ocurre debido a la

interacción con el monofosfato de sodio y el lauril sulfato de sodio presentes en la fórmula de los dentífricos que ejercen una atracción iónica con la molécula de clorhexidina, disminuyendo su efecto. La clorhexidina tiene una importante acción clínica en la reducción de la caries dental, especialmente por su acción sobre el principal causante, *Streptococcus mutans*, por lo que su efecto antimicrobiano previene la caries en individuos de alto riesgo. El barniz con clorhexidina al 20% de aplicación profesional se presenta como la forma farmacéutica más eficaz para el control de la caries dental, liberándose lentamente durante un tiempo prolongado.

Los geles con clorhexidina se hacen en cantidad del 0,5 y 1% para usarlo con cubetas dentales y también se venden para ayudar a detener y tratar la caries. Estos barnices y geles, la acción de la clorhexidina va a los dientes, siendo el gel menos pegado en las superficies de boca. Otra forma específica para el cuidado de periodontitis es las matrices biodegradables de gelatina con 2.5 mg de gluconato de clorhexidina, que se venden bajo marca Periochip®. Esta manera de dar medicamentos fue usada para uso en trabajo profesional después de hacer una limpieza mecánica con raspado y alisado en las encías de bolsas grandes con profundidad de más de 5mm, mirando a limpiar las bacterias locales en las encías como ayuda al tratamiento mecánico. La pastilla o tableta de clorhexidina que tiene 2,5 mg deja salir la clorhexidina lento dentro la bolsa de encías. Los estudios in vitro están mostrando una salida del 40% en 24 horas, y después la salida de clorhexidina queda por 7 a 10 días. (29)

La clorhexidina se usa en varios sectores de la medicina como un método para prevenir enfermedades. En neonatología y obstetricia las aplicaciones tópicas de clorhexidina para lavar la vagina, limpiar la piel del bebé y el cordón umbilical han sido efectivas en controlar infección después del parto. En cardiología en cirugías con inserción de dispositivos

intravasculares se observó que el uso de clorhexidina disminuyó infección local en el uso del catéter. En urología el uso tópico de clorhexidina ha sido efectivo para prevenir uretritis e infecciones relacionadas al catéter urinario. En oftalmología, las soluciones con clorhexidina se usan en prevención y tratamiento de infecciones oculares.

La clorhexidina se usa comúnmente en hospitales para limpiar la piel con una toallita y jabón o agua al 0,05% antes de cirugías. En cirugías, el uso de jabón con clorhexidina ayuda a preparar a los pacientes y limpiar las manos de los médicos antes de operar, para detener las infecciones. La clorhexidina mezclada con alcohol se usa como limpieza para la piel antes de sacar sangre y poner un catéter. Un estudio mostró que la clorhexidina con alcohol bajó la cantidad de gérmenes en la sangre porque se queda más tiempo activa contra gérmenes, aunque exista sangrado. También se nota que limpiar la piel antes de poner una línea vascular con clorhexidina baja la chance de infecciones en la sangre después de un sangrado venoso por colocar el catéter intravenoso.

.

Toxicidad y efectos adversos de la clorhexidina

Se clasificó a la clorhexidina como de bajo nivel de toxicidad en animales y humanos. Se destacaron los estudios pioneros de clorhexidina, que evaluaron la dosis letal para uso intravenoso e intraoral en ratas, observándose una dosis letal en altas concentraciones para ambos, principalmente intraoral, lo que caracteriza su baja toxicidad, y estos estudios se repitieron por 2 años y los únicos cambios observados fueron la aparición de células gigantes en los ganglios linfáticos abdominales, no se encontraron tumores ni otras manifestaciones en los animales. Se realizaron evaluaciones complementarias de los efectos teratogénicos, la sensibilidad cutánea y reproductiva en ratas y la irritación ocular en conejos y los resultados fueron satisfactorios, por lo que no se encontraron cambios significativos. En humanos, hasta

la década de 1970, solo se reportaron en la literatura diez casos de sensibilidad a la clorhexidina, y en muchos de estos casos no estaba claro si la causa era el uso de clorhexidina u otros factores asociados.

En los reportes actuales, el digluconato de clorhexidina se considera estable, y dependiendo de su concentración tiene baja toxicidad tisular, la absorción a través de mucosas y piel es mínima, es bien tolerado cuando se administra a animales y por vía parenteral e intravenosa, no atraviesa la barrera placentaria y no causa efectos secundarios tóxicos sistémicos con el uso tópico prolongado. La irritación de la piel depende de la concentración, con baja probabilidad de causar dermatitis cuando se usa con frecuencia en lavados antisépticos. La clorhexidina se utiliza de forma rutinaria para la antisepsia de la piel mediante hisopado o irrigación con solución al 0,05% antes de procedimientos quirúrgicos, y en estos casos el uso tópico de clorhexidina asociado a dermatitis de contacto se reporta solo en 2,5 a 5,4% de los pacientes. Para uso en la cavidad oral, la clorhexidina no penetra en el epitelio oral y se absorbe poco en el tracto gastrointestinal. Los estudios en animales sugieren que la clorhexidina se excreta principalmente en las heces cuando se ingiere, y solo una pequeña cantidad se metaboliza en el hígado y los riñones. La dosis letal de digluconato de clorhexidina LD50 oral es de 1.800 mg/Kg, mientras que la dosis letal LD50 intravenosa es de 22 mg/Kg. (30)

Raramente se han reportado reacciones agudas de hipersensibilidad a la clorhexidina, aunque existen reportes de reacciones de hipersensibilidad con la aplicación de clorhexidina como antiséptico, relacionándose más con aplicaciones en mucosas que en piel, siendo un evento poco común debido a que la absorción de clorhexidina es mínima. Teniendo en cuenta el uso generalizado de la clorhexidina como antiséptico en la piel, la alergia de contacto se

considera rara, por lo que la incidencia de reacciones alérgicas a la clorhexidina se relacionó solo con el 1 al 2,5% de los casos.

La reacción inmediata, que puede desencadenar una urticaria fulminante y desencadenar un shock anafiláctico, es más común que la reacción tardía a la clorhexidina. Estas reacciones pueden surgir cuando la piel o las mucosas se topan con la clorhexidina, y de los cincuenta reportes de anafilaxia vinculados a la clorhexidina en diez años, quince se presentaron durante la cirugía, manifestándose habitualmente entre 15 y 45 minutos tras el inicio de la anestesia. Ante cualquier duda de alergia inmediata a la clorhexidina, es prudente llevar a cabo pruebas de prick o incluso técnicas de reacción intradérmica antes de proceder con la clorhexidina.

Se reporta un caso de hipersensibilidad inmediata y tardía a la clorhexidina en un paciente de 61 años previo a una cirugía de hernia inguinal, por lo que el paciente desarrolló un exantema urticariforme durante la cirugía en espalda, brazos y estómago, el cual fue tratado con glucocorticoides intravenosos. En una prueba de alergia posterior, los resultados fueron negativos para las pruebas cutáneas, intradérmicas y subcutáneas con el anestésico utilizado, clorhidrato de bupivacaína, y con látex. En cambio, la prueba cutánea y del parche con gluconato de clorhexidina al 1% fue positiva. La ototoxicidad evita usar clorhexidina en cirugías del oído (interno o medio), y hay que evitar el contacto directo con el cerebro y las meninges. También tiene cuidado con los ojos al usar clorhexidina más del 1% porque puede causar conjuntivitis y daño a la córnea. Pero, bajas cantidades de clorhexidina se usan en preparaciones para los ojos sin toxicidad. La ototoxicidad para el uso de clorhexidina en operaciones que incluyen el oído medio o interno, también hay que esquivar el toque directo con el tejido cerebral y las meninges. Además, hay que tener cuidado cuando tiene contacto los ojos al utilizar soluciones con clorhexidina más 1%, puede causar conjuntivitis daño

grave a córnea. Sin embargo, bajas cantidades de clorhexidina son utilizadas en soluciones para los ojos sin cualquier efecto nocoplacente (31)

Algunos casos desarrollaron síndrome de dificultad respiratoria aguda por aspiración de clorhexidina directamente al pulmón, pero no hay información preclínica sobre la toxicidad pulmonar de la clorhexidina, ya que sus productos generalmente se desarrollan para la desinfección por uso tópico.

La clorhexidina muestra toxicidad cuando se observan estudios in vitro de efectos directos sobre células aisladas. La citotoxicidad in vitro de la clorhexidina se evaluó con una línea celular epitelial, donde se observó toxicidad de la clorhexidina en función del tiempo de exposición y de la composición del medio de exposición. Se observó que la toxicidad de una exposición de 24 horas a la clorhexidina para las células se redujo progresivamente, especialmente cuando la exposición se asoció con otros componentes como el suero fetal bovino, la albúmina, la lectina y la bacteria *Escherichia coli*, siendo estas reducciones en la toxicidad debida a la unión catiónica de la clorhexidina a los restos químicos cargados negativamente de los otros componentes.

El digluconato de clorhexidina puede usarse en la superficie de dentina antes de resanar los dientes; sin embargo, en dientes con vida palpar puede pasar a través de los espacios dentinarios hacia la capa única de odontoblastos y contactar con la pulpa del diente. En el mismo contexto del estudio de células fuera del cuerpo, se vio el efecto dañino de distintos niveles de clorhexidina en células odontoblásticas.

Se realizó un análisis de toxicidad en células madre mesenquimales humanas para micropartículas de hidróxido de calcio con clorhexidina, hidróxido de calcio puro y clorhexidina pura, analizando el porcentaje de viabilidad celular a diferentes concentraciones. Las micropartículas de hidróxido de calcio con clorhexidina e hidróxido de

calcio puro mostraron un porcentaje de viabilidad celular superior al 90%, mientras que la clorhexidina pura redujo la viabilidad celular a un porcentaje entre el 60 y el 80%, con mayor efecto citotóxico asociado a mayor concentración de clorhexidina. Las reacciones adversas observadas estuvieron relacionadas con tinción de los dientes, aumento de la formación de cálculos, cambios reversibles en el gusto e irritación de los tejidos con sensación de ardor y descamación de la mucosa. Sin embargo, la notificación de efectos adversos depende de su concentración, por lo que los efectos adversos son menos pronunciados en concentraciones iguales o inferiores al 0,2%. La clorhexidina tiene su aplicación más frecuente en soluciones orales al 0,12%, 0,2% y 2%, siendo la concentración al 2% la que presenta los mejores efectos antibacterianos, sin embargo a esta concentración presenta los mayores índices de efectos adversos. (32)

También se pueden observar efectos adversos a concentraciones de 0,12 y 0,2% de clorhexidina, especialmente bajo protocolo clínico de uso prolongado. Los efectos adversos sobre la mucosa oral por el uso de clorhexidina son menos frecuentes. Se han encontrado informes de irritación, eritema, descamación superficial, úlcera, glositis y boca seca en ensayos clínicos en adultos. En un estudio clínico de los efectos del enjuague bucal de clorhexidina con y sin alcohol, utilizado durante 4 días, se observó que los efectos adversos más frecuentes informados fueron sensación de ardor en la boca, sabor amargo después del enjuague y cambio de sabor. La frecuencia de eventos adversos fue significativamente mayor cuando se utilizó solución de clorhexidina con alcohol, representando un 57,1 %, mientras que la frecuencia para la solución de clorhexidina sin alcohol fue de 28,6 %. (33)

Un estudio reciente de estudios con grupos aleatorios miró los efectos del enjuague bucal con clorhexidina que se usó como ayuda a los métodos de limpieza de dientes durante mínimo cuatro semanas en el cuidado de la gingivitis en niños y grandes. Usar

clorhexidina bajó la gingivitis y el acúmulo de placa. Los efectos adversos notados fueron cambio en el sabor síntomas en la boca que incluyen dolor e irritación de mucosa; ardor en lengua; y mancha en los dientes..

La etiología de la tinción extrínseca de los dientes por agentes químicos utilizados para prevenir la formación de biopelículas no se comprende completamente. Se consideran tres posibles mecanismos: reacciones de pardeamiento no enzimático, también conocidas como reacciones de Maillard; la formación de sulfuros metálicos pigmentados por Hierro (Fe) y Estaño (Sn); y los productos de reacción de alimentos, bebidas y componentes químicos. Siendo las reacciones de oscurecimiento y la formación de sulfuros metálicos pigmentados las causas más probables de estas coloraciones, mientras que los factores dietéticos pueden tener un papel modificador (ERIKSEN et al., 1985). Existe evidencia de que la tinción es causada por la interacción o precipitación de los cromógenos de la dieta cuando la clorhexidina se absorbe localmente y, en presencia de componentes alimentarios cromógenos, los tintes de clorhexidina producen compuestos coloreados en la hidroxiapatita dental que conducen a la tinción. (34)

2.3 Formulación de hipótesis

2.3.1 Hipótesis general

- **HI:** Si existe diferencia significativa del efecto antibacteriano del AEE SP según el halo de inhibición en concentraciones de 100, 50, 25 y 12.5% comparado a la clorhexidina al 0,12% frente a la PG
- **H0:** No existe diferencia significativa del efecto antibacteriano del AEE SPsegún el halo de inhibición en concentraciones de 100, 50, 25 y 12.5% comparado a la clorhexidina al 0,12% frente a la PG

2.3.2 Hipótesis específicas

- HI: Si existe un efecto antibacteriano del AEE SP frente a la PG según halo de inhibición usando una concentración del 100%.
- HO: No existe un efecto antibacteriano del AEE SP frente a la PG según halo de inhibición usando una concentración del 100%.
- HI: Si existe un efecto antibacteriano del AEE SP frente a la PG según halo de inhibición usando una concentración del 50%.
- HO: No existe un efecto antibacteriano del AEE SP frente a la PG según halo de inhibición usando una concentración del 50%.
- HI: Si existe un efecto antibacteriano del AEE SP frente a la PG según halo de inhibición usando una concentración del 25%.
- HO: No existe un efecto antibacteriano del AEE SP frente a la PG según halo de inhibición usando una concentración del 25%.
- HI: Si existe un efecto antibacteriano del AEE SP frente a la PG según halo de inhibición usando una concentración del 12.5%.
- HO: No existe un efecto antibacteriano del AEE SP frente a la PG según halo de inhibición usando una concentración del 12.5%.

CAPITULO 3: METODOLOGÍA

3.1. Método de la investigación

El trabajo usará el método Hipotético Deductivo porque examina de manera ordenada las posibles relaciones generales para apoyar sus descubrimientos. Este método presenta un proceso lógico que incluye hacer suposiciones, establecer causas lógicas de esas suposiciones y realizar pruebas reales para ver si las predicciones basadas en las suposiciones coinciden con lo que se encuentra en la experiencia (35)

3.2. Enfoque de la investigación

En esta investigación, se usará un enfoque cuantitativo. Es una forma de buscar información que se apoya en recoger y estudiar datos numéricos para conocer y explicar situaciones sociales, naturales o científicas. Este enfoque se utiliza en diversas disciplinas, incluyendo la sociología, la psicología, la economía, la biología, la estadística, la ciencia política y muchas otras. (36)

3.3. Tipo de investigación

Es una investigación de tipo Básica. Una metodología básica es un conjunto de procedimientos, técnicas y enfoques que se utilizan para llevar a cabo una actividad o tarea de manera sistemática y organizada. Estas metodologías suelen ser simples y fácilmente comprensibles, diseñadas para abordar tareas comunes de manera eficiente (37).

La presente investigación será de tipo probabilístico observacional, de corte transversal y descriptiva porque se evaluará mediante un estudio *in vitro* el efecto antimicrobiano del AEE SP en comparación con la Clorhexidina al 0.12% frente a LA PG.

Es una forma de explorar información que emplea la probabilidad y los números para descubrir y visualizar datos; las diferentes maneras de observar situaciones implican el acto de presenciar directamente sucesos en el entorno natural. Un estudio transversal es una investigación de alcance amplio que examina detalladamente información relevante sobre diversos temas recopilada de una muestra representativa de individuos o de un grupo específico durante un período de tiempo preestablecido. También conocido como análisis de frecuencia, estos estudios se enfocan en analizar no solo las características de las personas que están siendo estudiadas, sino también en comprender las razones detrás de dichas características. Los diferentes métodos de búsqueda que describen los expertos ponen especial atención en el "qué es lo que se busca" y no tanto en el "por qué se está realizando" la búsqueda de información (37)

3.4. Diseño de la investigación

El diseño que utilizará la presente investigación será experimental e *in vitro*. Tendrá lugar en un entorno de laboratorio en condiciones estrictamente estériles. El investigador trabajará en un entorno controlado para manipular los cultivos respetando todas las normas de bioseguridad pertinentes. El diseño experimental es una técnica estadística mediante la cual se pueden rastrear las causas de un efecto y cuantificar la relación existente. Es un enfoque sistemático que permite estudiar, entre las variables de entrada y de salida, la relación que existe. (38)

Grupo A: G + X1O1 ≠ O2≠ O3≠ O4

Grupo B: G + X2O1 ≠ O2≠ O3≠ O4

Grupo C: G + X3O1 ≠ O2≠ O3≠ O4

Grupo C: G + X3O1 ≠ O2≠ O3≠ O4

Donde:

Grupo A, B y C: Grupos de estudio (A, B: Experimental y C: Control)

G: Cultivos de *P. gingivalis*

X1 = AEE SP

X2 = Clorhexidina al 0.12% (Control positivo)

X3 = Solución salina al 0.85% (Control negativo)

O1 = Concentración #1

O2 = Concentración #2

O3 = Concentración #3

O4 = Concentración #4

3.5. Población, Muestra y muestreo

Población:

Para el presente trabajo de investigación la población estará compuesta por tres grupos consistente en dieciocho placas Petri con cepas de PG procedentes de un laboratorio de Lima-Perú. La población será distribuida de la siguiente manera.

- Seis placas Petri con cepas de PG se colocó AEE SP. (Grupo de control)
- Seis placas Petri con cepas de PG donde se colocó agua destilada, las cuales funcionaron como grupo control negativo, Para garantizar que los resultados no se

vean influenciados por factores extraños o para erradicar posibles sesgos, se implementa el grupo de control. Para el experimento se utiliza una muestra que no se prevé que tenga éxito.

- Seis placas Petri con cepas de PG se colocó gluconato de clorhexidina al 0,12%

Muestra:

Para determinar el tamaño de la muestra se hizo uso de la siguiente fórmula:

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 S^2}{(X_1 - X_2)}$$

$$(X_1 - X_2)$$

Donde:

n = Tamaño de muestra preliminar.

$$Z_{\alpha/2} = 1.96 \text{ para un } \alpha = 0,05$$

$$Z_{\beta} = 0.64 \text{ para un } \beta = 0,20$$

S= (X1 – X2) valor asumido por no haber estudios similares

Reemplazando:

$$n = (2.6)^2(2)(0.64)$$

$$n=10$$

Por tanto cada grupo de estudio estará conformado por 10 placas de Petri.

Criterios de inclusión

- Placas Petri con PG no contaminadas.
- Placas Petri a temperatura ambiente (37 °C).
- Placas Petri en buen estado de conservación.

- Placas Petri que tengan Agar Sangre.
- Placas Petri previamente esterilizadas.

Criterio de exclusión

- Placas Petri que no tuvieron cultivo.
- Placas Petri que no pudieron dar lectura a los halos de inhibición.
- Placas Petri que fueron contaminadas.
- Placas Petri que se dañaron

Muestreo:

El muestreo que se llevará a cabo será de tipo probabilístico intencional, ya que previamente se realizó una evaluación exhaustiva para verificar si las cepas seleccionadas cumplían con los criterios de inclusión establecidos para el estudio.

3.6. Variables y operacionalización

Variable independiente: Solución antibacteriana *in vitro*.

Variable dependiente: Actividad antibacteriana sobre la PG.

Variable interviniente: Concentración influyente en la Inhibición de crecimiento bacteriano

Operacional de Variables

Variable Independiente

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Medición	Escala valorizada
Aceite esencial de Eucalipto	El AEE SP se obtuvo a través de arrastre de vapor de hojas de Eucalipto	Resultante de inhibición de crecimiento bacteriano	Inhibición total del crecimiento bacteriano según las concentraciones del aceite esencial	Halo de inhibición	Concentración del aceite esencial

Variable Dependiente

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de Medición	Escala valorizada
Actividad antibacteriana	Moléculas antimicrobianas presentes en el aceite esencial	Presencia de crecimiento bacteriano	<i>P. gingivalis</i>	Nominal	Crecimiento microbiano

Variable Interviniente					
Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de Medición	Escala valorizada
Concentración	Concentración determinada del aceite que inhiba el crecimiento	Concentración que se evaluará a través del crecimiento bacteriano	Concentraciones del AEE SP	Cuantitativa	100%, 50, 25, 12.5,

3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.7.1. Técnica

Se empleará una técnica de observación indirecta. Este enfoque consistió en evaluar los intervalos de freno en la proliferación de cepas de PG en milímetros. Las mediciones registradas serán detalladas con precisión.

El estudio, que se llevará a cabo en dos periodos de 48 y 72 horas, se plasmará en una hoja de cálculo de Excel. En esta hoja de cálculo se desplegará el tiempo en forma de halo y se evaluará la actividad bacteriana.

Obtención de la muestra

Se utilizarán cepas de PG previamente identificadas por los microbiólogos y adquiridas en laboratorios reconocidos.

Activación de las cepas:

Después de obtener las cepas puras, se sacarán de su contenedor de almacenamiento y se sembrarán en una placa de Agar Sangre diseñada para microorganismos anaerobios. Es importante tener en cuenta que este proceso debe completarse en un máximo de 5 minutos.

Cultivo de la cepa:

Para el cultivo de la bacteria se utilizará el agar sangre para anaerobios, y el proceso de siembra se realizará uniformemente sobre la placa utilizando un hisopo estéril. Para ello se empleará la técnica de aislamiento de estrías simples, y este proceso se llevará a cabo en tres cajas de Petri.

3.7.2. Descripción de instrumentos

Procedimientos para la obtención de las soluciones:

Una solución de gluconato de clorhexidina a una concentración de 0,12% que está disponible comercialmente para su compra.

Se utilizará AEE SP obtenido con la ayuda de especialistas en la producción de aceites esenciales de laboratorios de química.

Medio de cultivo microbiológico utilizado comúnmente para realizar la prueba de susceptibilidad a antibióticos.

Para las pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos, se recomienda ampliamente utilizar Agar Sangre como medio de cultivo debido a su alto valor nutricional. Una vez realizada esta selección, las placas quedarán debidamente etiquetadas para su uso.

Inoculación de las sustancias en estudio mediante el método de difusión en disco

Para inocular la cepa reactivada se utilizará un hisopo estéril para embeberlo en el inóculo que se ha mezclado con agua destilada. A continuación, la mezcla se aplicará sobre la superficie de Agar Sangre, utilizando la técnica de empobrecimiento en bucle para garantizar una cobertura completa del área. Después de 3 a 5 minutos de secado, se aplicarán 100 uL a pocillos que contengan AEE SP y otros con Clorhexidina al 0,12%. Para permitir los halos de inhibición, las placas de petri se incubarán en un frasco anaerobio herméticamente cerrado durante 72 horas a 37°C.

Determinación del efecto antibacteriano de la Clorhexidina al 0.12% y AEE SP frente al *P. Gingivalis*.

- La inoculación en el medio de cultivo Agar Sangre siguió a la preparación del agar, y sólo después de verificar la cepa en su estado de máximo crecimiento.
- Para conseguir un césped bacteriano sobre una placa de Agar Sangre, se sembró uniformemente una cantidad fija de bacterias sobre la superficie. Este proceso se repitió 10 veces por placa de Petri.
- Sobre las placas que ya habían sido inoculadas con PG se colocaron diversos discos de papel de filtro empapados en solución de irrigación, facilitados por pinzas estériles.

- Con un intervalo de 15 minutos se dejaron reposar las placas, permitiendo que el medio consumiera las sustancias luego de insertar los discos.
- Las placas de Petri fueron transportadas directamente a la incubadora.
- En cada repetición, las placas de estudio se sometieron a un período de incubación que duró 72 horas, realizándose la observación y medición durante ese tiempo específico.
- El efecto antibacteriano *in vitro* se evaluó mediante determinación cualitativa de las zonas de inhibición siguiendo la escala de Duraffourd y medición del diámetro de inhibición.

Escala de Duraffourd

EFEECTO ANTIBACTERIANO	DIÁMETRO DE INHIBICIÓN
NULA (-)	0 a 7 mm.
SENSIBLE (+)	8 a 14 mm
MUY SENSIBLE (++)	Entre 15 a 20 mm.
ALTAMENTE SENSIBLE (+++)	De 21 mm. a más

Evaluación de la efectividad antibacteriana

Medición del diámetro de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano.

El diámetro de los halos que inhiben el crecimiento de microorganismos es un factor crucial en este estudio. Las mediciones de los halos se realizarán utilizando un calibrador Vernier y luz reflejada en la superficie de la placa de Petri. Los datos recogidos de las mediciones a las 72 horas se registrarán en la correspondiente ficha de recogida de datos.

Preparación del AEE SP

El AEE SP se trabajó usando las siguientes concentraciones: 100, 50, 25 y 12.5%, se utilizó además como solvente el dimetilsulfóxido. (Figura 1)



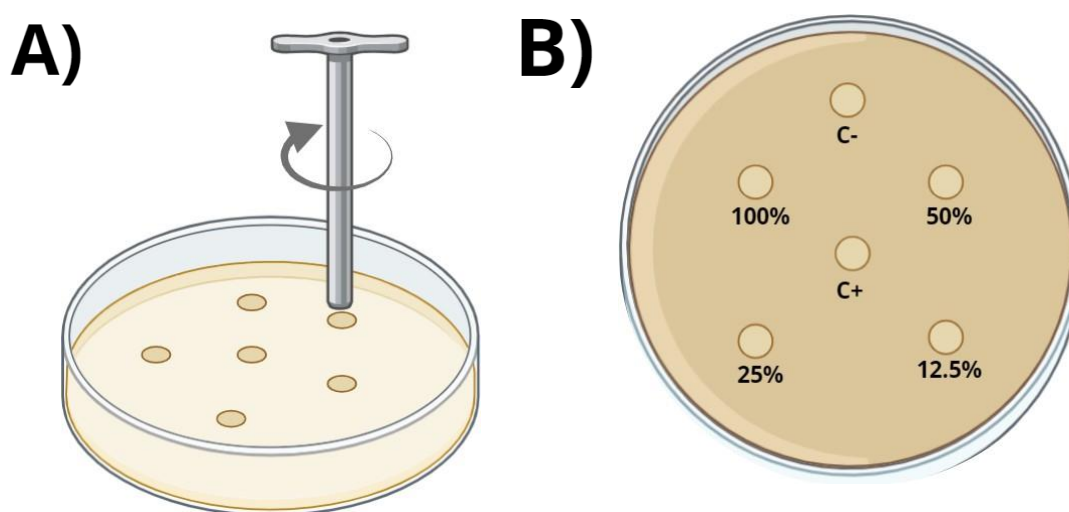
(Figura 1: Dilución de aceite esencial y homogeneización de cada solución)

Cepa bacteriana y condiciones de crecimiento

El microorganismo utilizado en el presente estudio, es decir, *PGATCC 33277*, proviene de The American Type Culture Collection (ATCC) y se inoculó en Agar Shaedler. (1) suplementado con Vitamina K y Hemina para garantizar el crecimiento de la bacteria, mientras que las condiciones de incubación fueron de 37°C en anaerobiosis durante 72 horas. Posteriormente, se cogieron colonias y estas se inocularon en TSB para su reactivación bajo las mismas condiciones mencionadas anteriormente durante 24 horas. (2) Para el siguiente ensayo se ajustó la densidad óptica de los caldos bacterianos a 0.8 en 600 nm utilizando solución salina al 0.85% estéril como diluyente.

Actividad antimicrobiana Difusión en placa

Siguiendo la metodología planteada por Monsalve y Bello, (3) se tomó un hisopo el cual se embebió dentro de la suspensión bacteriana y se inoculó en toda la superficie de la placa petri conteniendo 20 mL de Agar Scheadler suplementado. Posteriormente, se realizaron pocillos haciendo uso de un sacabocados (Figura 2) y se retiraron en esterilidad. Finalmente en cada pocillo se dispensaron 100 uL de las siguientes soluciones: Aceite esencial 100, 50, 25 y 12.5% además del control negativo (Dimetilsulfóxido) y el control positivo (Clorhexidina). Las condiciones de incubación fueron de 37°C en anaerobiosis durante 72 horas. Los resultados se reportaron a través de una medida del halo de inhibición respectiva a cada muestra de cada pocillo. El ensayo se realizó por triplicado y 3 veces.



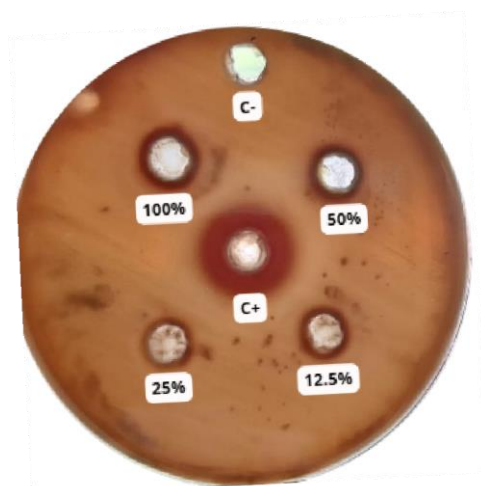
(Figura 2: A) Técnica de corte del agar para pocillos con el sacabocados, B) Diseño del método de difusión en placa petri. C-: Control negativo, C+: Control positivo)

Resultados

Actividad antimicrobiana mediante el método de difusión en placa

El resultado del ensayo de actividad antimicrobiana se presenta en la figura 3 y tabla 1. Como se observa en la figura 3, cada pocillo presentó un halo de inhibición alrededor de él, siendo el de mayor diámetro el pocillo correspondiente a la clorhexidina, seguido de las concentraciones de 100, 50, 25 y 12.5%. Finalmente el pocillo que contenía el dimetilsulfóxido como control negativo no presentó ningún halo de inhibición alrededor de él.

A)



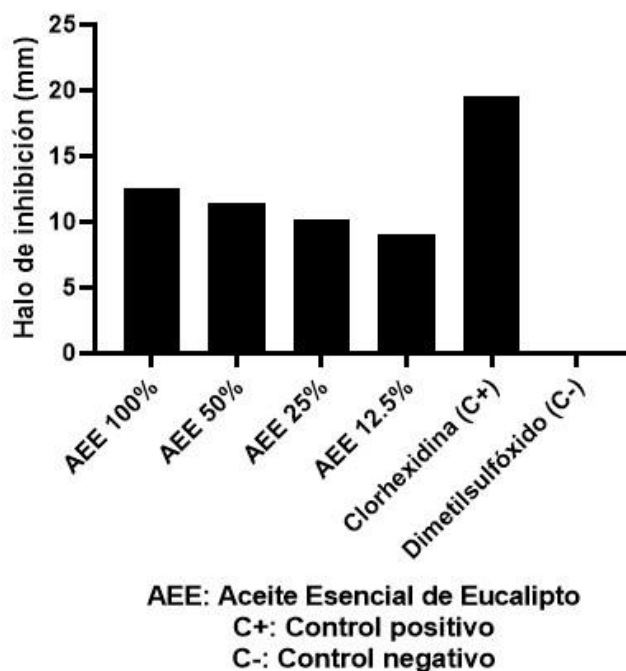
(Figura 3: A) Halos de inhibición alrededor de los pocillos en Agar Sangre modificado)

Muestra	\bar{x} Diámetro de halo de inhibición (mm) \pm DS
AEE SP 100%	12.56 \pm 1.24
AEE SP 50%	11.44 \pm 1.33
AEE SP 25%	10.22 \pm 1.01

AEE SP 12.5%	09.00±0.67
Clorhexidina (C+)	19.56±0.71
Dimetilsulfóxido (C-)	00±00

(Tabla 1: Efectividad antibacteriana del aceite esencial y los controles positivo y negativo en cultivos de PG tras 72 horas de incubación)

Efectividad Antimicrobiana del Aceite esencial de Eucalipto y Clorhexidina



(Figura 4: Comparación de la efectividad antimicrobiana del AEE SP, clorhexidina y dimetilsulfóxido frente a PG)

Prueba de Hipótesis

Prueba de normalidad

Se realizó una prueba de normalidad utilizando el test de Shapiro-Wilk ($n < 50$) para evaluar la distribución de los valores y si cumplían con criterios de normalidad.

Muestra	Valor p
AEE SP 100%	0.4074
AEE SP 50%	0.2081
AEE SP 25%	0.0284
AEE SP 12.5%	0.0489
Clorhexidina (C+)	0.1954

Nivel de significancia ($\alpha = 0,05$)

(Tabla 2: Análisis de normalidad por Shapiro Wilk de las muestras frente a PG)

Los datos obtenidos en la tabla 2 nos muestran la distribución de los valores e indica que las muestras correspondientes al AEE SP al 25 y 12.5% no cumplen con los criterios de normalidad y se recomienda el uso de análisis estadísticos no paramétricos como la prueba de Friedman.

Prueba de Friedman

Se realizó el siguiente análisis estadístico para evaluar la significancia entre distintas muestras enfrentadas a PG. y se consideró a la prueba de Friedman pues se utilizan las mismas unidades experimentales y solo cambian las condiciones de tratamiento como la concentración del AEE SP o Clorhexidina. Los datos obtenidos en la tabla nos muestran que se obtuvo un p-value < 0.05 lo que indica diferencias significativas entre las muestras analizadas y según el test de Dunn todas las comparaciones entre nuestras muestras presentan diferencias significativas al presentar también un p-value < 0.05 .

Muestra	\bar{x} Diámetro de halo de inhibición (mm) \pm DS
AEE SP 100%	12.56 \pm 1.24
AEE SP 50%	11.44 \pm 1.33
AEE SP 25%	10.22 \pm 1.01
AEE SP 12.5%	09.00 \pm 0.67
Clorhexidina (C+)	19.56 \pm 0.71

Prueba de Friedman ($p < 0.05$), Test de Dunn ($p < 0.05$)

3.7.3. Validación y Confiabilidad

Siguiendo el protocolo de investigación establecido, se llevarán a cabo las mediciones correspondientes a las 72 horas de incubación en condiciones controladas. Se procederá a llevar a cabo el examen minucioso de cada placa, donde se tomará nota detallada de los diámetros de los halos de inhibición a través de la lectura meticulosa de cada placa. Para llevar a cabo este proceso, se empleará el calibrador Vernier debido a su reconocida precisión y exactitud. La validación de dicho instrumento se llevará a cabo mediante la ejecución de una prueba piloto con un tamaño de muestra equivalente al 10% del total, lo cual posibilitará la realización de ajustes necesarios para asegurar la fiabilidad y validez del instrumento en cuestión.

3.8. Plan de procesamiento y análisis de datos

Para obtener estadísticas descriptivas y visualizar los tiempos de exposición de cada muestra, se utilizará el programa estadístico SPSS para el procesamiento de datos.

3.9. Aspectos éticos

La importancia científica de esta investigación es que contribuye a la expansión y mejora del campo de conocimiento de la endodoncia. Para garantizar que esta investigación se lleve a cabo de acuerdo con todas las reglamentaciones necesarias, se deben cumplir varios requisitos. En primer lugar, la selección de la cepa debe ser certificada por un microbiólogo cualificado que posea la experiencia necesaria para mantenerla en su estado natural. En segundo lugar se debe garantizar la calidad del AEE SP y que esté debidamente homologada y con manual que lo acredite. Finalmente, el gluconato de clorhexidina al 0.12% utilizado en la investigación debe estar en un envase que cuente con los correspondientes certificados, registro farmacéutico y fecha de vencimiento. Especialistas en el campo de la microbiología supervisarán todo el estudio.

El estudio del valor social que rodea a estas sustancias es de gran importancia, ya que los hallazgos beneficiarán tanto a los profesionales como a los pacientes. Los profesionales podrán implementar estas sustancias de una manera más efectiva, mientras que los pacientes podrán evitar experimentar menos complicaciones clínicas.

El próximo proceso será analizado y admitido para su implementación por la Junta de Revisión de Áreas de Investigación de la Escuela de Odontología Profesional de la Universidad.

CAPITULO 5. RESULTADOS

4.1 Resultados

4.1.1. Análisis descriptivo de resultados

Tabla 1. Actividad antimicrobiana del AEE SP sobre el crecimiento de PG

	Efecto antibacteriano del AEE SP al 100%		Efecto antibacteriano del AEE SP al 50%		Efecto antibacteriano del AEE SP al 25%		Efecto antibacteriano del AEE SP al 12.5%	
	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje
Sensible	8	88.9%	9	100%	9	100%	9	100%
Muy sensible	1	11.1%	0	0%	0	0%	0	0%
Total	9	100%	9	100%	9	100%	9	100%

En la tabla número 1 se puede observar claramente la notable actividad antimicrobiana que presenta el AEE SP frente al crecimiento de PG. Se destaca que, a una concentración del 100% de este aceite esencial, se evidenció sensibilidad en un porcentaje del 88.9% (N=8), mientras que a concentraciones del 50%, 25% y 12.5%, la sensibilidad fue del 100% en todos los casos (N=9).

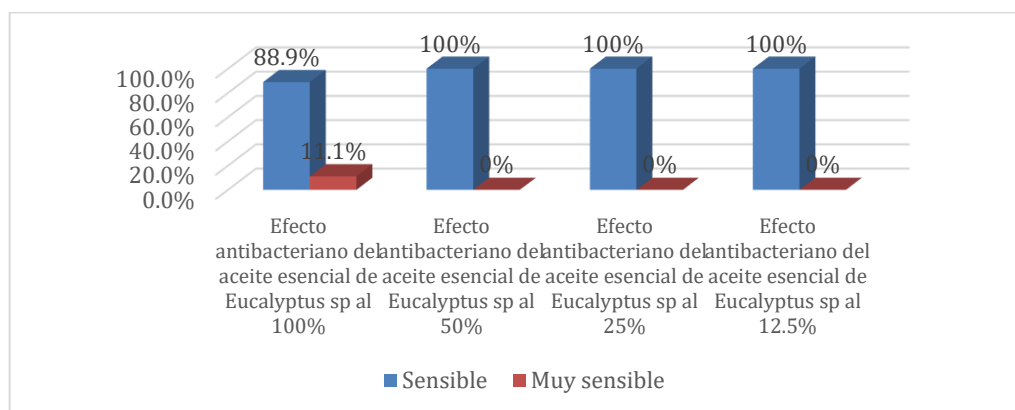


Figura 1. Gráfico de columnas de la actividad antimicrobiana del AEE SP sobre el crecimiento de PG

Tabla 2. Efecto antibacteriano del AEE SP sobre el crecimiento de PG mediante el método de difusión en agar usando 100% de aceite

		Frecuencia	Porcentaje	Media	DE.	p-valor*
Efecto antibacteriano del AEE SP al 100%	Sensible	8	88.9%			
	Muy sensible	1	11.1%	12.56	1.333	0.000
	Total	9	100%			

* Prueba T para una muestra

En la tabla 2 se aprecia la actividad antimicrobiana del AEE SP al 100% sobre el crecimiento de PG en mayor porcentaje fue sensible en un 88.9% (N°=8), seguido de muy sensible en un 11.1% (N°=1). El diámetro de los halos presentó una media de 12.56 y una DE igual a 1.333

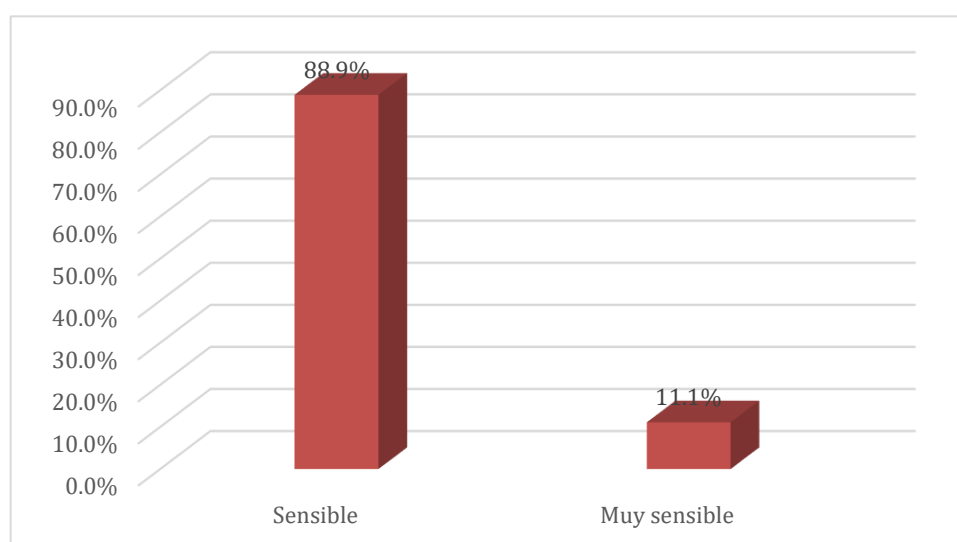


Figura 2. Gráfico de histograma del efecto antibacteriano del AEE SP sobre el crecimiento de PG mediante el método de difusión en agar usando 100% de aceite

Tabla 3. Efecto antibacteriano del AEE SP sobre el crecimiento de PG mediante el método de difusión en agar usando 50% de aceite

		Frecuencia	Porcentaje	Media	DE.	p-valor*
Efecto antibacteriano del AEE SP al 50%	Sensible	9	100%	11.44	1.014	0.000

* Prueba T para una muestra

En la tabla 2 se aprecia la actividad antimicrobiana del AEE SP al 50% sobre el crecimiento de PG el porcentaje total fue sensible en un 100% (N°=9). El diámetro de los halos presentó una media de 11.44 y una DE igual a 1.014.

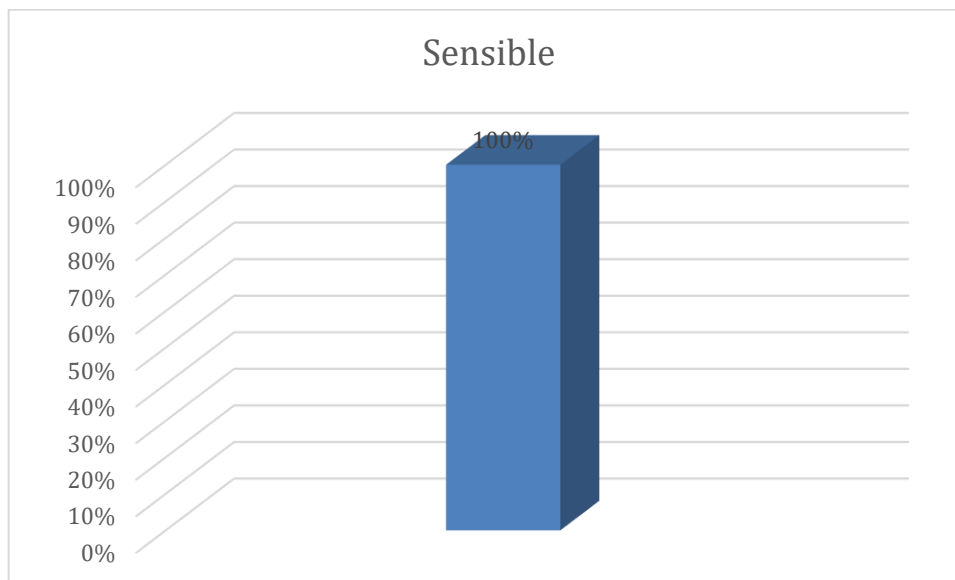


Figura 3. Gráfico de columna del efecto antibacteriano del AEE SP sobre el crecimiento de PG mediante el método de difusión en agar usando 50% de aceite

Tabla 4. Efecto antibacteriano del AEE SP sobre el crecimiento de PG mediante el método de difusión en agar usando 25% de aceite

		Frecuencia	Porcentaje	Media	DE.	p-valor*
Efecto antibacteriano del AEE SP al 25%	Sensible	9	100%	10.33	0.500	0.000

* Prueba T para una muestra

En la tabla 4, se evidencia que el AEE SP actúa como un protector microbiano del 25% contra PG, con una sensibilidad del 100% (N°=9). Los halos mostraron un diámetro promedio de 10.33 y una DE de 0.500.

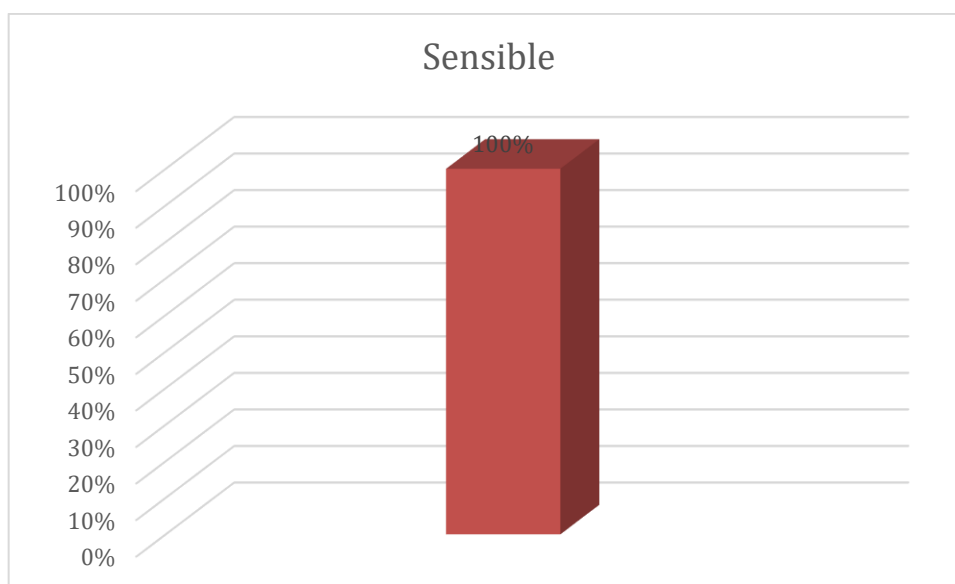


Figura 4. Gráfico de columna del efecto antibacteriano del AEE SP sobre el crecimiento de PG mediante el método de difusión en agar usando 25% de aceite

Tabla 5. Efecto antibacteriano del AEE SP sobre el crecimiento de PG mediante el método de difusión en agar usando 12.5% de aceite

		Frecuencia	Porcentaje	Media	DE.	p-valor*
Efecto antibacteriano del AEE SP al 12.5%	Sensible	9	100%	9.11	0.601	0.000

* Prueba T para una muestra

En la tabla 5 se revela que el AEE SP tuvo un impacto del 12.5% en la proliferación de PG, siendo la sensibilidad total del 100% (N°=9). Los halos mostraron un diámetro promedio de 9.11 y una DE de 0.601.

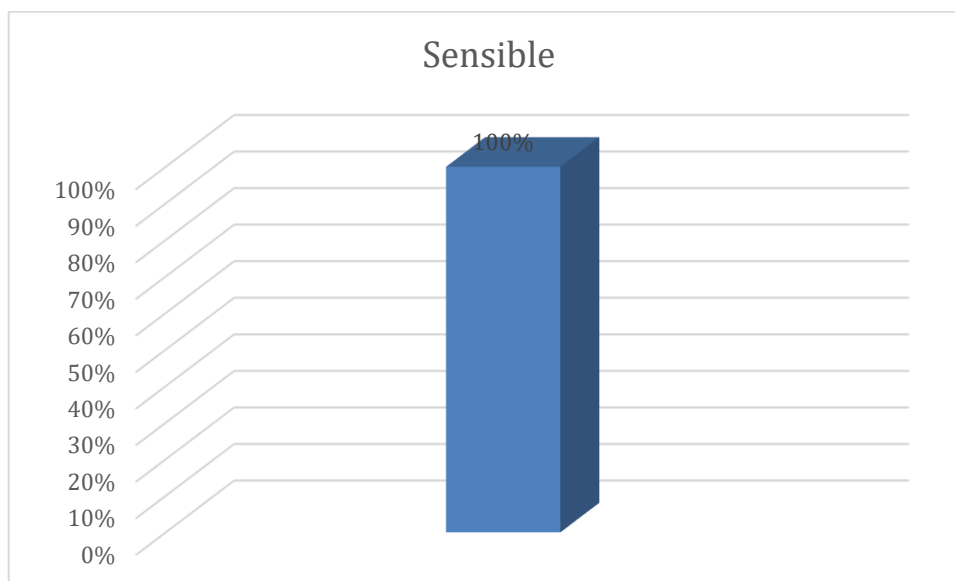


Figura 5. Gráfico de columna del efecto antibacteriano del AEE SP sobre el crecimiento de PG mediante el método de difusión en agar usando 12.5% de aceite

Tabla 6. Actividad antimicrobiana de la Clorhexidina al 0.12% frente a PG

		Frecuencia	Porcentaje	Media	DE.	p-valor*
Clorhexidina al 0.12% frente a Porphyromonas gingivalis	Muy sensible	8	88.9%			
	Altamente sensible	1	11.1%	19.56	1.236	0.000
	Total	9	100%			

* Prueba T para una muestra

En la tabla 2, se evidencia la efectividad antimicrobiana del AEE SP al 100%, con un 88.9% de sensibilidad, seguido de un 11.1% de extrema sensibilidad. Los halos mostraron un diámetro promedio de 12.56 centímetros y una DE de 1.333 centímetros.

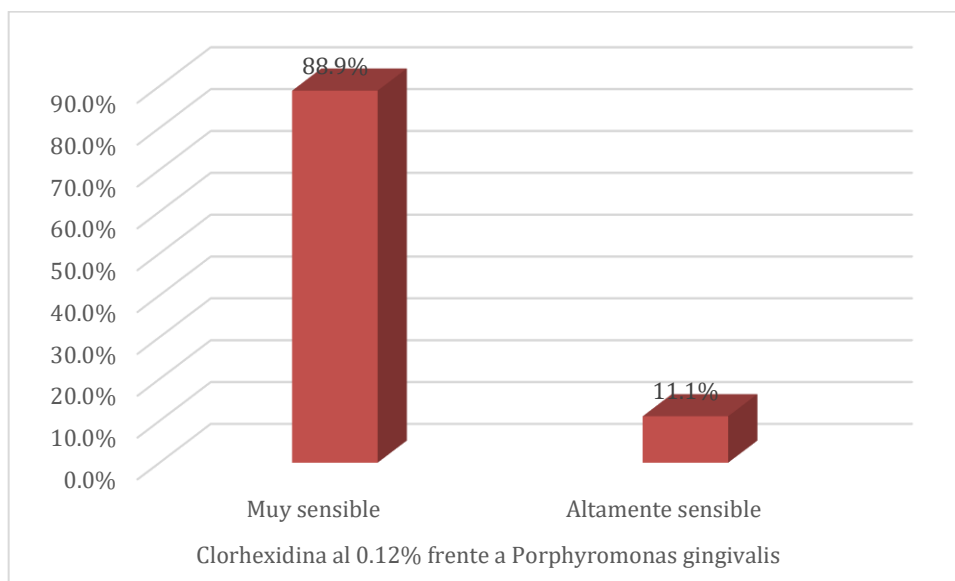


Figura 6. Gráfico de columnas de la actividad antimicrobiana de la Clorhexidina al 0.12% frente a PG

4.1.2. Prueba de hipótesis

Formulación de Hipótesis General

HI: Si existe diferencia significativa del efecto antibacteriano del AEE SP según el halo de inhibición en concentraciones de 100, 50, 25 y 12.5% comparado a la clorhexidina al 0,12% frente a la PG.

HO: No existe diferencia significativa del efecto antibacteriano del AEE SP según el halo de inhibición en concentraciones de 100, 50, 25 y 12.5% comparado a la clorhexidina al 0,12% frente a la PG.

Ho: Hipótesis nula, HI: Hipótesis alterna

Establecer el Nivel de Significancia

Para llevar a cabo el estudio, se determinó que sería pertinente trabajar con un nivel de confianza del 95%, lo cual equivale a un nivel de significancia (α) del 5% = 0.05.

Determinación del Estadígrafo a Emplear

A través del análisis T de una muestra, se puede descubrir si el AEE SP actúa como un formidable protector contra la PG según el halo de inhibición utilizando una concentración del 100%.

	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	DE	95% de IC		p-valor*
						Límite inferior	Límite superior	
AEE SP 100%	12.56	12	11	15	1.333	11.53	13.58	
AEE SP 50%	11.44	12	10	13	1.014	10.67	12.22	
AEE SP 25%	10.33	10	10	11	0.500	9.95	10.72	0.000
AEE SP 12.5%	9.11	9	8	10	0.601	8.65	9.57	
Clorhexidina al 0.12%	19.56	20	18	22	1.236	18.61	20.51	

*Prueba de Friedman

Toma de Decisión

La tabla evidencia que, en relación con la actividad antimicrobiana del AEE SP en relación con el crecimiento de PG el AEE SP 100% presenta una media de 12.56 con una Desviación Estandar de 1.333, el AEE SP 50 por ciento presenta una media de 11.44 con una Desviación Estandar de 1.014, el AEE SP 25 por ciento presenta una media de 10.33 con una Desviación Estandar de 0.500, el AEE SP 12.5% presenta una media de 9.11 con una Desviación Estandar de 0.601, mientras que la Clorhexidina al 0.12 por ciento presenta una media de 19.56 con una Desviación Estandar de 1.236. En todos los resultados se observa un p. valor de 0.000 (menos de 0.05 por ciento) En consecuencia, se desestima la hipótesis nula, y se acepta que **Si existe diferencia significativa del efecto antibacteriano del AEE SP según el halo de inhibición en concentraciones de 100, 50, 25 y 12.5% comparado a la clorhexidina al 0,12% frente a la PG**

.

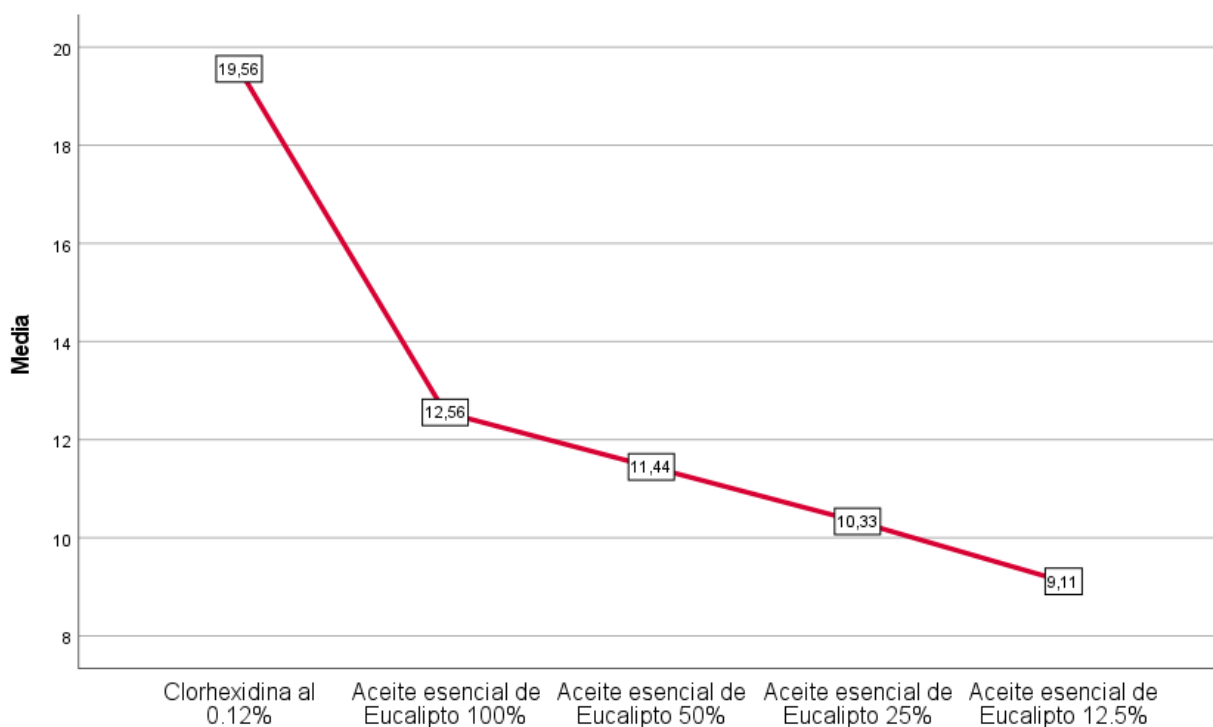


Figura 7. Gráfico de medias de la actividad antimicrobiana del AEE SP con la clorhexidina frente a PG

Formulación de Hipótesis específica 1

H₁: Si existe un efecto antibacteriano del AEE SP frente a la PG según halo de inhibición usando una concentración del 100%.

H₀: No existe un efecto antibacteriano del AEE SP frente a la PG según halo de inhibición usando una concentración del 100%

H₀: Hipótesis nula, H₁: Hipótesis alterna

Establecer el Nivel de Significancia

Para llevar a cabo el estudio, se determinó que sería pertinente trabajar con un nivel de confianza del 95%, lo cual equivale a un nivel de significancia (α) del 5% = 0.05.

Determinación del Estadígrafo a Emplear

A través del análisis T de una muestra, se puede descubrir si el AEE SP actúa como un formidable protector contra la PG según el halo de inhibición utilizando una concentración del 100%..

	Sig. asintótica
Prueba T de una muestra	0.000

Nivel de significancia = 0.05

Toma de Decisión

Dado que, el resultado de la prueba T de una muestra el p-valor = 0.000 ($p < 0.05$), se rechaza la hipótesis nula es decir **Si existe un efecto antibacteriano del AEE SP frente a la PG según halo de inhibición usando una concentración del 100%.**

Formulación de Hipótesis específica 2

H₁: Si existe un efecto antibacteriano del AEE SP frente a la PG según halo de inhibición usando una concentración del 50%.

H₀: No existe un efecto antibacteriano del AEE SP frente a la PG según halo de inhibición usando una concentración del 50%

H₀: Hipótesis nula, H₁: Hipótesis alterna

Establecer el Nivel de Significancia

Para llevar a cabo el estudio, se determinó que sería pertinente trabajar con un nivel de confianza del 95%, lo cual equivale a un nivel de significancia (α) del 5% = 0.05.

Determinación del Estadígrafo a Emplear

A través de la prueba T de una muestra, se puede descubrir si el AEE SP actúa como un protector bactericida contra la PG según el halo de inhibición utilizando una concentración del 50%..

	Sig. asintótica
Prueba T de una muestra	0.000

Nivel de significancia = 0.05

Toma de Decisión

Dado que, el resultado de la prueba T de una muestra el p-valor = 0.000 ($p < 0.05$), se rechaza la hipótesis nula es decir **Si existe un efecto antibacteriano del AEE SP frente a la PG según halo de inhibición usando una concentración del 50%.**

Formulación de Hipótesis específica 3

H₁: Si existe un efecto antibacteriano del AEE SP frente a la PG según halo de inhibición usando una concentración del 25%.

H₀: No existe un efecto antibacteriano del AEE SP frente a la PG según halo de inhibición usando una concentración del 25%

H₀: Hipótesis nula, H₁: Hipótesis alterna

Establecer el Nivel de Significancia

Para llevar a cabo el estudio, se determinó que sería pertinente trabajar con un nivel de confianza del 95%, lo cual equivale a un nivel de significancia (α) del 5% = 0.05.

Determinación del Estadígrafo a Emplear

A través de la prueba T de una muestra, se puede descubrir si el AEE SP actúa como un protector bactericida contra la PG según el halo de inhibición utilizando una concentración del 25%..

	Sig. asintótica
Prueba T de una muestra	0.000

Nivel de significancia = 0.05

Toma de Decisión

Dado que, el resultado de la prueba T de una muestra el p-valor = 0.000 ($p < 0.05$), se rechaza la hipótesis nula es decir **Si existe un efecto antibacteriano del AEE SP frente a la PG según halo de inhibición usando una concentración del 25%.**

Formulación de Hipótesis específica 4

H₁: Si existe un efecto antibacteriano del AEE SP frente a la PG según halo de inhibición usando una concentración del 12.5%.

H₀: No existe un efecto antibacteriano del AEE SP frente a la PG según halo de inhibición usando una concentración del 12.5%

H₀: Hipótesis nula, H₁: Hipótesis alterna

Establecer el Nivel de Significancia

Para llevar a cabo el estudio, se tomó la determinación de trabajar con un nivel de confianza del 95%, el cual equivale a un nivel de significancia (α) del 5% = 0.05.

Determinación del Estadígrafo a Emplear

A través del análisis T de una muestra, se puede descubrir si el AEE SP actúa como un protector bactericida contra la *PG* según el halo de inhibición utilizando una concentración del 12.5%.

	Sig. asintótica
Prueba T de una muestra	0.000

Nivel de significancia = 0.05

Toma de Decisión

Dado que, el resultado de la prueba T de una muestra el p-valor = 0.000 ($p < 0.05$), se rechaza la hipótesis nula es decir **Si existe un efecto antibacteriano del AEE SP frente a la PG según halo de inhibición usando una concentración del 12.5%.**

4.1.3. Discusión de resultados

El desafío de la resistencia a los antimicrobianos se ve como uno de los grandes retos en el campo de salud pública; así que, se sugiere la creación de nuevas sustancias con habilidad de combatir microbios que son muy importantes para la salud humana a través de metabolitos que actúen como defensores. El estudio aquí escogió aceite de Eucalipto como un posible buen agente antimicrobiano contra *PG*, un microbio patógeno común en muchas infecciones bucales, como periodontitis. (4)

Los resultados obtenidos en el ensayo correspondiente a la efectividad antibacteriana del AEE SP frente a *PG* evidencia el potencial de esta sustancia al presentar como se observa en la figura 3 halos de inhibición alrededor de los pocillos en los cuales se dispensaron las siguientes soluciones: AEE SP al 100%, 50%, 25% y 12.5%. Además, se utilizaron controles positivos y negativos, siendo estos la clorhexidina y el dimetilsulfóxido, respectivamente.

Autores como Alejo y Pineda (5) proponen el uso de aceite esenciales para hacer frente a *PG* este estudio difiere del presente trabajo de investigación, pues aquellos investigadores utilizan aceite esencial de *Minthostachys* “muña” el cual presentó actividad antimicrobiana evidenciada a través de un halo de inhibición de 18 mm, los cuales son similares al que presentó aquel ensayo por difusión en placa siendo de 20 mm la cual siguiendo la escala de Duraffourd (6) se consideraría al primer resultado como una cepa sumamente sensible a aquella solución por estar dentro del rango de ≥ 20 mm, mientras que el obtenido en esta investigación alcanza los 12.56 y 11.44 mm en un porcentaje puro de 100% y diluido al 50% lo que indica según la misma escala de Duraffourd un resultado sensible del microorganismo frente al aceite esencial, por otro lado los resultados del aceite diluido al 25% y 12.5% obtuvieron un resultado de 10.22 y 9.00, respectivamente, lo que indica consistencia en la inhibición del aceite esencial sobre *PG* estando dentro del rango de 9 y 14 mm. Por otro lado comparando aquel resultado con el de fármaco Clorhexidina, este obtuvo una halo de inhibición de 31.33 mm, siendo este sumamente mayor a los presentados por el aceite esencial en todas sus concentraciones. Según León, *et al.* (7) El tratamiento periodontal idóneo es la Clorhexidina, cuyo poder antibacteriano se ha demostrado en este estudio, superando incluso al aceite esencial, revelando una eficacia notablemente superior a la de Eucalipto contra *PG*.

En el presente estudio se trabajó con AEE SP el cual según autores como Montero, *et al.* (8) atribuyen la actividad antibacteriana de este aceite esencial a sustancias como fenoles y monoterpenos los cuales representan gran parte de la composición en este aceite esencial y según su investigación este se debe principalmente a su interacción directa con el citoplasma bacteriano causando daños finalmente en su membrana celular.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- Se confirmó la existencia de una diferencia en el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Eucalyptus* sp. en comparación con la clorhexidina al 0,12%, evidenciada por el diámetro de la zona de inhibición registrado a concentraciones del 100%, 50%, 25% y 12,5% frente a *Porphyromonas gingivalis*.
- Se evidenció un efecto antibacteriano del aceite esencial de *Eucalyptus* sp. contra *Porphyromonas gingivalis* demostrado por la formación de una zona de inhibición al emplear una concentración del 100%.
- A una concentración del 50%, el aceite esencial de *Eucalyptus* sp. mostró actividad antibacteriana contra *Porphyromonas gingivalis* manifestada por la presencia de una zona de inhibición.
- Se manifiesta actividad antibacteriana del aceite esencial de *Eucalyptus* sp. contra *Porphyromonas gingivalis* a una concentración del 25%, reflejada en la formación de una zona de inhibición.
- A una concentración del 12,5%, el aceite esencial de *Eucalyptus* sp. mantuvo su efecto antibacteriano contra *Porphyromonas gingivalis* evidenciado por la presencia de una zona de inhibición.

5.2 Recomendaciones

La presente investigación no busca sustituir completamente el uso de la Clorhexidina como agente antibacteriano en tratamientos periodontales, sino busca presentar otras alternativas sobre este tipo de infecciones, principalmente para evitar la generación de resistencia antibacteriana de patógenos como *PG* sobre fármacos conocidos como la clorhexidina, además. pretende iniciar una serie de investigaciones que estudien el potencial de plantas medicinales y/o cultivos endémicos del Perú con el fin de encontrar metabolitos que tengan acción antibacteriana y pueden ser consideradas también alternativas en los tratamientos periodontales.

Se recomienda también continuar las investigaciones del AEE SP, pues este presentó una elevada acción antibacteriana frente a *PG* se recomienda realizar el enfrentamiento con otros patógenos como *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus mutans*, etc. Además de realizar otros ensayos microbiológicos como determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) con el fin de determinar cuál será el porcentaje más bajo en el que se presenta aún actividad antibacteriana, con el fin de conocer aún más el potencial de este aceite esencial.

5. REFERENCIAS

1. Alba JM, Alba LM. Salud bucodental en los niños: ¿debemos mejorar su educación? *Pediatría Atención Primaria* [Internet]. 2020;21. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1139-76322019000400003
2. De Andrade KQ, Almeida-da-Silva CLC, Coutinho-Silva R. Immunological Pathways Triggered by *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum*: Therapeutic Possibilities? *Mediators Inflamm* [Internet]. 2019;2019:7241312. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1155/2019/7241312>
3. Kemparaj U, Umesh S, Karuppaiah M, Pandian P. Evaluación comparativa de enjuagues bucales de cáscara de cacao, jengibre y clorhexidina en la reducción del recuento de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* en la saliva: un ensayo controlado aleatorizado. 11(6):1–9. 2020.
4. Moreno S, Contreras A. Factores de Virulencia de *Porphyromonas gingivalis*. *Revista de la Fundación Juan Jose Carraro*. 16-27. [Online].; 2013. Available from: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/bin-130158>.
5. Borja V. Efecto inhibitorio del extracto de manzanilla, extracto de llantén y la combinación del extracto de manzanilla y llantén comparado con la clorhexidina sobre cepa de *Porphyromona gingivalis* [Tesis de Licenciatura]. Universidad Central del Ecuador. [Online].; 2017. Available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/12747>.

6. Bascones A, Morante S. Antisépticos orales: Revisión de la literatura y perspectiva actual. *Av Periodoncia Implantol Oral* [Internet]. 2006;18(1). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4321/s1699-65852006000100004>
7. Inés C, Adriana T, Graciela G. Terapias antimicrobianas en infecciones odontogénicas en niños y adolescentes. Revisión de la literatura y recomendaciones para la clínica. *Odontoestomatología* [Internet]. mayo de 2016;18. Disponible en: http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-93392016000100002
8. Rodríguez MJ. Resistencia antibiótica y cavidad oral. *OVital* [Internet]. 2022;1(37):3–7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.59334/rov.v1i37.527>
9. Alejo R, Pineda Y. Maritza Actividad antibacteriana del aceite esencial de *minthostachys mollis* “muña” en comparación con la clorhexidina al 0.12% sobre la *porphyromonas gingivalis* (estudio *in vitro*), Huánuco-20212021 (Tesis de Licenciatura, Univ.Nac. “Hermilio Valdizán”). [Online].; 2022. Available from: <https://repositorio.unheval.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13080/7090/TO00141A39.pdf?sequence=5&isAllowed=y>.
10. Alarcón M. Eficacia del extracto hidroalcohólico de coca, de la sangre de grado y del gluconato de clorhexidina en el diámetro del halo inhibitorio de las cepas certificadas de *porphyromonas gingivalis* en el laboratorio de microbiología. [Online].; Universidad Católica de Santa María; 2022.
11. Muñoz M. Estudio comparativo de las propiedades antimicrobianas del extracto de arándano frente a la clorhexidina al 0,12%, en el efecto inhibitorio de un

- periodontopatógeno (*Porphyromonas Gingivalis*) estudio in vitro. (Tesis de Licenciatura, Univ. Nac. De Loja). [Online].; 2020. Available from: https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/23422/1/MariadelPilar_Munoz_Oviedo.pdf.
12. Barrak I, Barath Z, Tian T, Venkei A, Gajdacs M, Urban Eea. Effects of different decontaminating solutions used for the treatment of peri-implantitis on the growth of *Porphyromonas gingivalis*-an *in vitro* study. *Acta Microbiol Immunol Hung* [Internet] 68(1):40–7. [Online].; 2021. Available from: <https://doi.org/10.1556/030.2020.01176>.
 13. Alvarez R, Gutierrez R. Actividad bactericida del aceite esencial de orégano (*origanum spp.*) y sangre de grado (*croton lechleri*) comparada con gluconato de clorhexidina al 0.12% y 0.2% sobre *porphyromona gingivalis*. *Veritas*, 13(1), 117-124. [Online].; 2019. Available from: <https://revistas.ucsm.edu.pe/ojs/index.php/veritas/article/view/189>.
 14. Ramos A. Actividad antibacteriana del extracto de *Erythroxylum coca* sobre *Porphyromonas Gingivalis*, estudio *in vitro*. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/item/9234334d-67ed-43e1-a7fd-726ba4ffb894>
 15. Bascones Martínez A, Figuero Ruiz E. Las enfermedades periodontales como infecciones bacterianas. *Av Periodoncia Implantol Oral* [Internet]. 2005;17(3). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4321/s1699-65852005000300004>
 16. Lara M, Torres M, Baez M, Albertini S. General aspects of antimicrobials use and their interaction whit the environment: An emerging problem. *Compend Cienc Vet* [Internet]. 2019;9(2):24–37. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.18004/compend.cienc.vet.2019.09.02.24-37>

17. Avello Lorca Marcia, Fernández Rocca Pola, Faundez Curiente Benjamín, Zagal Montecinos Ana María, Gordon Martí Jenny, Valenzuela Zambrano Bárbara. Fitoaromaterapia como complemento para mejorar la salud laboral. Rev Cubana Plant Med [Internet]. 2011;16(3):279-295 Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962011000300008&lng=es.
18. Asquino Natalia, García Ma. Victoria, Mayol Magdalena, Andrade Ernesto, Bueno Rossy Luis Alexandro. Aceites Esenciales: Una opción quimioterapéutica en Periodoncia. Odontoestomatología [Internet]. 2016 Nov [citado 2024 Oct 01] ; 18(28): 4-10. Disponible en: http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-93392016000200002&lng=es.
19. Vignola MB, Serra MA, Andreatta AE. Actividad Antimicrobiana de Diversos Aceites Esenciales en Bacterias Benéficas, Patógenas y Alterantes de Alimentos. RTyC [Internet]. 2020;(37):92–100. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.33414/rtyc.37.92-100.2020>
20. González-Guiñez R, Silva-Aguayo G, Urbina-Parra A, Gerding-González M. ACEITE ESENCIAL DE Eucalyptus globulus Labill Y Eucalyptus nitens H. Deane & Maiden (MYRTACEAE) PARA EL CONTROL DE Sitophilus zeamais Motschulsky. Chil J Agric Anim Sci [Internet]. 2016;(ahead):0–0. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/s0719-38902016005000005>

21. Montero-Recalde M, Morocho-Núñez MJ, Avilés-Esquivel D, Carrasco-Cando Á, Erazo-Gutierrez R. Eficacia antimicrobiana del aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus spp*) sobre cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*. *Rev Investig Vet Peru* [Internet]. 2019;30(2):932–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v30i2.16099>
22. Yáñez-Rueda X, Cuadro-Mogollón O. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de las especies *Eucalyptus globulus* y *E. camaldulensis* de tres zonas de Pamplona (Colombia). (2012). Disponible en: https://revistas.unipamplona.edu.co/ojs_viceinves/index.php/BISTUA/article/view/48
23. Sin C, Rosenda Britos M, Chamorro ME, Fernandez D, Ortega S. Aceites esenciales con actividad antibacteriana: posible aplicación y administración en odontología. *OVital* [Internet]. 2021;2(35). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.59334/rov.v2i35.446>
24. Bascones A MSPE. Antisépticos en el tratamiento de la enfermedad periodontal. *Av Periodon Implantol*; 14(3): 101-114. 2002.
25. Encarnación M EK. Comparación del efecto antibacteriano entre soluciones de *Hibiscus Sabdariffa* y Clorhexidina 0.12% sobre el *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* (estudio *in vitro*) Huánuco 2017. [Tesis de titulación] Huánuco, Perú: Universidad Nacional Hermilio Valdizá. 2018.

26. James P WHPCHMLTCAea. Chlorhexidine mouthrinse as an adjunctive treatment for gingival health. *Cochrane Database Syst Rev*; (3):1–148. 2017.
27. Puig M MJAJ. Uso de los barnices de clorhexidina en la prevención y el tratamiento de la enfermedad periodontal. Una revisión de la bibliografía *Odontol. Prev*; 1(2):103-9. 2008.
28. Rivas P. Eficacia antibacteriana de dos enjuagues bucales sobre estreptococos orales. [Tesis de titulación]. Lima, Perú: Universidad Privada Juan Pablo II. 2015.
29. Orbea C. Estudio comparativo entre los efectos clínicos de la aplicación de gel de doxiciclina al 20% y solución de clorhexidina al 0.2%, en pacientes con enfermedad periodontal crónica después de la terapia periodontal básica. [Tesis] U.Central Del Ecuador. 2013.
30. Morante S. Valoración cruzada y a doble ciego, mediante el modelo de gingivitis experimental, de la eficacia de tres colutorios de clorhexidina sin alcohol frente a la prevención de gingivitis y a la neoformación de placa supragingival. [Tesis] U.Complut.Madrid. 2003.
31. Ramos D, MHME. *Porphyromonas gingivalis*: patógeno predominante en la periodontitis crónica. *Revista Científica Odontología Sanmarquina*.. 2011
32. Ponce A MP. Efectividad antibacteriana de productos naturales frente a microorganismos patógenos de la flora oral. In *Crescendo. Ciencias de la Salud*.; 2(2): 530-537. 2015.

33. Cantu O, Rodriguez J. Propiedades y uso de la clorhexidina en el tratamiento periodontal no quirúrgico y quirúrgico. *Odontol Actual*; 96(116):56–60. 2019.
34. Peña M CMGM SAH. Patógenos periodontales y sus relaciones con enfermedades sistémicas. *Medisan*. 2012.
35. Hernández R. Metodología de investigación. Sexta edición : S.A.DE C.V. ; 2019.
36. Baena G. Metodología de la investigación México: Grupo Editorial Patria S.A. DE C.V.; 2014.
37. Mejía E. Metodología de la investigación Lima-Perú: Centro de producción Editorial e Imprenta de la Universidad Nacional de San Marcos; 2012.
38. Saavedra P. Metodología de Investigación Científica Huancayo-Perú: Soluciones Gráficas SAC.; 2017.

Anexos

Anexo 1: Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Diseño Metodológico	Indicadores
<p>Problema general</p> <p>¿Cuál es el efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto según el halo de inhibición en concentraciones de 100, 50, 25 y 12.5% comparado a la clorhexidina al 0,12% frente a la <i>Porphyromonas gingivalis</i> ?</p> <p>Problemas específicos</p> <p>¿Cuál es el efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto frente a <i>Porphyromonas</i></p>	<p>Objetivo general</p> <p>Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto según el halo de inhibición en concentraciones de 100, 50, 25 y 12.5% comparado a la clorhexidina al 0,12% frente a la <i>Porphyromonas gingivalis</i></p> <p>Objetivos específicos</p> <p>Establecer el efecto antibacteriano del aceite esencial de</p>	<p>Hipótesis General</p> <ul style="list-style-type: none"> • HI: Si existe diferencia significativa del efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto según el halo de inhibición en concentraciones de 100, 50, 25 y 12.5% comparado a la clorhexidina al 0,12% frente a la <i>Porphyromonas gingivalis</i> • H0: No existe diferencia significativa del efecto antibacteriano del 	<p>Variable independiente: Solución antibacteriana in vitro.</p> <p>Variable dependiente: Actividad antibacteriana sobre la <i>Porphyromonas gingivalis</i>.</p> <p>Variable interviniente: Concentración del aceite esencial de Eucalipto</p>	<p>Tipo de investigación</p> <p>Método inductivo; enfoque mixto; de tipo observacional de corte transversal y descriptivo; de diseño experimental.</p> <p>Población</p> <p>18 placas petri.</p> <p>Muestra</p> <p>Colonias de <i>Porphyromonas gingivalis</i>.</p>	<p>Inhibición del crecimiento (Halos de Inhibición)</p> <p><i>Porphyromonas gingivalis</i></p> <p>Aceite esencial de Eucalipto</p> <p>Gluconato de Clorhexidina al 0.12%</p> <p>Concentraciones de 100, 50, 25, 12.5% del aceite esencial de Eucalipto</p>

<p>gingivalis, según halo de inhibición usando una concentración del 100%?</p> <p>¿Cuál es el efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto frente a Porphyromonas gingivalis,, según halo de inhibición usando una concentración del 50%?</p> <p>¿Cuál es el efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto frente a Porphyromonas gingivalis,, según halo de inhibición usando una concentración del 25%?</p> <p>¿Cuál es el efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto frente a Porphyromonas</p>	<p>Eucalipto frente a Porphyromonas gingivalis, según halo de inhibición usando una concentración del 100%</p> <p>Establecer el efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto frente a Porphyromonas gingivalis,, según halo de inhibición usando una concentración del 50%</p> <p>Establecer el efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto frente a Porphyromonas gingivalis,, según halo de inhibición usando una concentración del 25%</p> <p>Establecer el efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto frente a</p>	<p>aceite esencial de Eucalipto según el halo de inhibición en concentraciones de 100, 50, 25 y 12.5% comparado a la clorhexidina al 0,12% frente a la Porphyromonas gingivalis</p> <p>Hipótesis específicas</p> <p>HI: Si existe un efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto frente a la porphyromonas gingivalis, según halo de inhibición usando una concentración del 100%.</p> <p>HO: No existe un efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto frente a</p>			
---	---	--	--	--	--

<p>gingivalis,, según halo de inhibición usando una concentración del 12.5%?</p>	<p>Porphyromonas gingivalis,, según halo de inhibición usando una concentración del 12.5%</p>	<p>la porphyromonas gingivalis, según halo de inhibición usando una concentración del 100%.</p> <p>HI: Si existe un efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto frente a la porphyromonas gingivalis, según halo de inhibición usando una concentración del 50%.</p> <p>HO: No existe un efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto frente a la porphyromonas gingivalis, según halo de inhibición usando una concentración del 50%.</p> <p>HI: Si existe un efecto</p>			
--	---	--	--	--	--

		<p>antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto frente a la porphyromonas gingivalis, según halo de inhibición usando una concentración del 25%.</p> <p>HO: No existe un efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto frente a la porphyromonas gingivalis, según halo de inhibición usando una concentración del 25%.</p> <p>HI: Si existe un efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto frente a la porphyromonas gingivalis, según halo de inhibición usando una concentración del</p>			
--	--	--	--	--	--

		12.5%. HO: No existe un efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalipto frente a la porphyromonas gingivalis, según halo de inhibición usando una concentración del 12.5%.			
--	--	--	--	--	--

Anexo 2. Ficha de recolección de datos

Halos de Inhibición en mm	Aceite esencial de eucalipto				Gluconato de clorhexidina 0.12%			
	Placas	12.5 %	25.5 %	50%	100%	12.5 %	25.5 %	50%
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18								

Anexo 3. Validez de instrumento



VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

I. DATOS GENERALES

- 1.1 Apellidos y Nombres del Experto: VÁSQUEZ RODRIGO HERNÁN
- 1.2 Cargo e Institución donde labora: DOCENTE
- 1.3 Nombre del Instrumento motivo de evaluación: FICHA DE RECOLECCION DE DATOS
- 1.4 Autor(es) del Instrumento: SERGIO JOEL QUISPE RIOS
- 1.5 Título de la Investigación: EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE EUCALYPTUS SP. (EUCALIPTO) Y SU COMPARACIÓN CON EL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0,12% FRENTE A PORPHYROMONAS GINGIVALIS

II. ASPECTO DE LA VALIDACIÓN

	CRITERIOS	Deficiente 1	Baja 2	Regular 3	Buena 4	Muy buena 5
1. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.					α
2. OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.					α
3. ACTUALIDAD	Adecuado al avance de la ciencia y tecnología					α
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.					α
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad en sus ítems.					α
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del desarrollo de capacidades cognoscitivas.					α
7. CONSISTENCIA	Alineado a los objetivos de la investigación y metodología.					α
8. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores y las dimensiones.					α
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde al propósito del estudio					α
10. PERTINENCIA	El instrumento es adecuado al tipo de Investigación.					α
CONTEO TOTAL DE MARCAS (realice el conteo en cada una de las categorías de la escala)						α
		A	B	C	D	E

$$\text{Coeficiente de Validez} = \frac{(1 \times A) + (2 \times B) + (3 \times C) + (4 \times D) + (5 \times E)}{50} = 1$$

III. CALIFICACIÓN GLOBAL (Ubique el coeficiente de validez obtenido en el intervalo respectivo y marque con un aspa en el círculo asociado)

Categoría	Intervalo
Desaprobado <input type="radio"/>	[0,00 – 0,60]
Observado <input type="radio"/>	<0,60 – 0,70]
Aprobado <input checked="" type="radio"/>	<0,70 – 1,00]

IV. OPINIÓN DE APLICABILIDAD:

APLICABLE

, 26 de AGOSTO del 2021


 MG. Dr. Hernán Vázquez Rodrigo
 CAP. # 9570
 Firma y sello

VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

I. DATOS GENERALES

- 1.1 Apellidos y Nombres del Experto: Mg. Esp. CD. Peggy Sotomayor Woolcott
 1.2 Cargo e Institución donde labora: Docente Escuelas de Odontología.
 1.3 Nombre del Instrumento motivo de evaluación: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS
 1.4 Autor(es) del Instrumento: SERGIO JOEL QUISPE RIOS
 1.5 Título de la Investigación: EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE EUCALYPTUS SP. (EUCALIPTO) Y SU COMPARACIÓN CON EL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0,12% FRENTE A PORPHYROMONAS GINGIVALIS

II. ASPECTO DE LA VALIDACIÓN

	CRITERIOS	Deficiente 1	Baja 2	Regular 3	Buena 4	Muy buena 5
1. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.				X	
2. OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.					X
3. ACTUALIDAD	Adecuado al avance de la ciencia y tecnología					X
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.					X
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad en sus ítems.				X	
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del desarrollo de capacidades cognoscitivas.					X
7. CONSISTENCIA	Alineado a los objetivos de la investigación y metodología.					X
8. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores y las dimensiones.					X
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde al propósito del estudio					X
10. PERTINENCIA	El instrumento es adecuado al tipo de Investigación.					X
CONTEO TOTAL DE MARCAS (realice el conteo en cada una de las categorías de la escala)						
		A	B	C	D	E

$$\text{Coeficiente de Validez} = \frac{(1 \times A) + (2 \times B) + (3 \times C) + (4 \times D) + (5 \times E)}{50} = \frac{0.96}{1} = 0.96$$

III. CALIFICACIÓN GLOBAL (Ubique el coeficiente de validez obtenido en el intervalo respectivo y marque con un aspa en el círculo asociado)

Categoría	Intervalo
Desaprobado <input type="radio"/>	[0,00 – 0,60]
Observado <input type="radio"/>	<0,60 – 0,70]
Aprobado <input checked="" type="radio"/>	<0,70 – 1,00]

IV. OPINIÓN DE APLICABILIDAD:

APLICABLE

, 26 de AGOSTO del 2021


 Firma y sello
 Mg. Esp. CD. Peggy Sotomayor Woolcott
 COP. 12404

VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

I. DATOS GENERALES

- 1.1 Apellidos y Nombres del Experto: *ROJAS ORTIZ DEL MAQUIL*
 1.2 Cargo e Institución donde labora: *PROFESOR ENFERMERIA*
 1.3 Nombre del Instrumento motivo de evaluación: *FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS*
 1.4 Autor(es) del Instrumento: SERGIO JOEL QUISPE RIOS
 1.5 Título de la Investigación: EVALUACIÓN *IN VITRO* DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE *EUCALYPTUS SP.* (EUCALIPTO) Y SU COMPARACIÓN CON EL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0,12% FRENTE A *PORPHYROMONAS GINGIVALIS*

II. ASPECTO DE LA VALIDACIÓN

	CRITERIOS	Deficiente 1	Baja 2	Regular 3	Buena 4	Muy buena 5
1. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.					5
2. OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.					5
3. ACTUALIDAD	Adecuado al avance de la ciencia y tecnología					5
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.					5
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad en sus ítems.					5
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del desarrollo de capacidades cognoscitivas.					5
7. CONSISTENCIA	Alineado a los objetivos de la investigación y metodología.					5
8. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores y las dimensiones.					5
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde al propósito del estudio					5
10. PERTINENCIA	El instrumento es adecuado al tipo de Investigación.					5
CONTEO TOTAL DE MARCAS (realice el conteo en cada una de las categorías de la escala)						
		A	B	C	D	E

Coeficiente de Validez = $\frac{(1 \times A) + (2 \times B) + (3 \times C) + (4 \times D) + (5 \times E)}{50} =$

III. CALIFICACIÓN GLOBAL (Ubique el coeficiente de validez obtenido en el intervalo respectivo y marque con un aspa en el círculo asociado)

Categoría	Intervalo
Desaprobado	[0,00 – 0,60]
Observado	<0,60 – 0,70]
Aprobado	<0,70 – 1,00]

IV. OPINIÓN DE APLICABILIDAD:

, 26 de AGOSTO del 2024


 Dr. CD. Raúl Rojas Ortega
 COP 14487 RNA 0162
 Firma y sello

Anexo 4: Aprobación de comité de ética



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



Lima, 7 de Marzo de 2025

CARTA N° 0094-2025-GYT-UPNW-CP

Dr. Mario Alcarraz Curi
Responsable del laboratorio de Microbiología
Bioprocesos Industriales Consultores SAC
Mz H lote 7 Urbanización Los Jardines del Naranjal II. San Martín de Porres. Lima
Lima.-

ASUNTO: Autorización para aplicación de estudio de campo

De mi mayor consideración:

Es grato dirigirme a usted para saludarlo cordialmente y a la vez **presentar** al egresado de la carrera profesional de Odontología; **Sergio Joel Quispe Ríos**, con código de matrícula N° **2017101210**, con la finalidad de solicitar se brinde todas las facilidades pertinentes para que pueda aplicar los instrumentos de recolección de datos en Ensayos de confrontación entre el aceite esencial de Eucalyptus sp y Porphyromonas gingivalis

Toda la información que solicita el tesista **Sergio Joel Quispe Ríos** es para la elaboración de su proyecto de investigación denominado: "**EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE EUCALYPTUS SP. (EUCALIPTO) Y SU COMPARACIÓN CON EL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0,12% FRENTE A PORPHYROMONAS GINGIVALIS**" dirigido por la asesora de tesis, Mg. Esp. CD. Sara Angelica Morante Maturana para la obtención del título profesional de Cirujano Dentista.

Agradeciendo por anticipado su autorización a la tesista para que logre su propósito, hago propicia la ocasión para expresarle los sentimientos de mi consideración y estima personal.

Atentamente,

DR



Mg. Eduardo Falcón Puicón
Jefe de Grados y Títulos
Universidad Privada Norbert Wiener S.A.

Anexo 5: Constancia de Exoneración



COMITÉ INSTITUCIONAL DE ÉTICA E INTEGRIDAD CIENTÍFICA

CONSTANCIA DE EXONERACIÓN DE REVISIÓN

Lima, 03 de febrero de 2025

Investigador(a)
Sergio Joel Quispe Ríos
Exp. N°: 1047-2024

De mi consideración:

Es grato expresarle mi cordial saludo y a la vez informarle que el Comité Institucional de Ética e Integridad Científica de la Universidad Privada Norbert Wiener (CIEIC-UPNW) acuerda la **Exoneración de revisión** del siguiente protocolo de estudio:

- Protocolo titulado: **“EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE EUCALYPTUS SP. (EUCALIPTO) Y SU COMPARACIÓN CON EL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0,12% FRENTE A PORPHYROMONAS GINGIVALIS.” Versión 02 con fecha 18/01/2025.**

El cual tiene como investigador principal al Sr(a) Sergio Joel Quispe Ríos.

Es cuanto informo a usted para su conocimiento y fines pertinentes.

Atentamente,


Raúl Antonio Rojas Ortega
Presidente
Comité Institucional de Ética e Integridad Científica
UPNW



Avenida Arequipa 440
Universidad Privada Norbert Wiener
Teléfono: 706-5555 anexo 3286-3287 Cel. 981000698
Correo: comite.etica@uwieneredu.pe

Anexo 6: Carta de aprobación de la institución para la recolección de datos

BIOCONSULTORES^{SAC}

CONSTANCIA

Dra. Brenda Vergara Pinto
Directora
A.A.P. Odontología – Universidad Norbert Wiener
Presente.

Estimada Doctora:

Es grato dirigirme a usted para hacer de su conocimiento que el señor **SERGIO JOEL QUISPE RIOS**, con DNI 48259899, bachiller en odontología de la E.A.P que usted dirige, realizó las pruebas microbiológicas del estudio experimental in vitro titulado **“EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE EUCALYPTUS SP. (EUCALIPTO) Y SU COMPARACIÓN CON EL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0,12% FRENTE A PORPHYROMONAS GINGIVALIS”** que corresponde a su tesis para obtener el título de Cirujano Dentista.

La experimentación fue realizada de setiembre 2024 a febrero del presente año y fue supervisado por mi persona cumpliendo con todos los protocolos de bioética, bioseguridad requeridos.

Sin otro particular.
Atentamente

Lima 29 de marzo de 2025



Dr. Mario Alcarraz Curi
Jefe de Laboratorio
C.B.P. 2627

Anexo 7: Programa de intervención

BIOCONSULTORES_{SAC}

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Basado en CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). (2022).
Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.

Metodología

Preparación del aceite esencial de Eucalipto

El aceite esencial de Eucalipto se trabajó usando las siguientes concentraciones: 100, 50, 25 y 12.5%, se utilizó además como solvente el dimetilsulfóxido. (Figura



1)

(Figura 1: Dilución de aceite esencial y homogeneización de cada solución)

Cepa bacteriana y condiciones de crecimiento

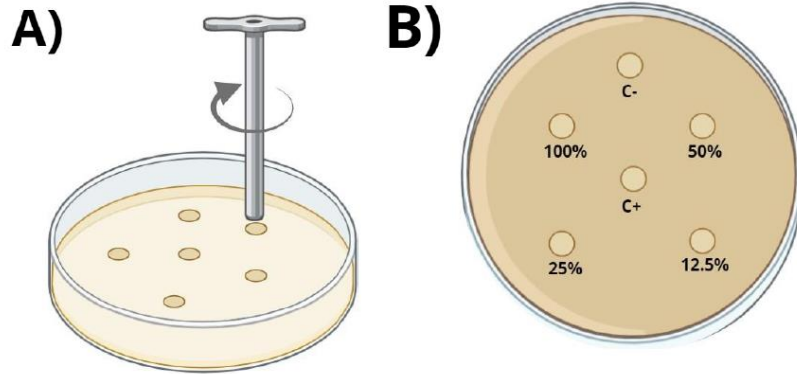
El microorganismo utilizado en el presente estudio, es decir, *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, proviene de The American Type Culture Collection

projects@bioconsultores.net Visitenos en: www.bioconsultores.net

(ATCC) y se inoculó en Agar Shaedler. (1) suplementado con Vitamina K y Hemina para garantizar el crecimiento de la bacteria, mientras que las condiciones de incubación fueron de 37°C en anaerobiosis durante 72 horas. Posteriormente, se cogieron colonias y estas se inocularon en TSB para su reactivación bajo las mismas condiciones mencionadas anteriormente durante 24 horas. (2) Para el siguiente ensayo se ajustó la densidad óptica de los caldos bacterianos a 0.8 en 600 nm utilizando solución salina al 0.85% estéril como diluyente.

Actividad antimicrobiana Difusión en placa

Siguiendo la metodología planteada por Monsalve y Bello, (3) se tomó un hisopo el cual se embebió dentro de la suspensión bacteriana y se inoculó en toda la superficie de la placa petri conteniendo 20 mL de Agar Scheadler suplementado. Posteriormente, se realizaron pocillos haciendo uso de un sacabocados (Figura 2) y se retiraron en esterilidad. Finalmente, en cada pocillo se dispensaron 100 uL de las siguientes soluciones: Aceite esencial 100, 50, 25 y 12.5% además del control negativo (Dimetilsulfóxido) y el control positivo (Clorhexidina). Las condiciones de incubación fueron de 37°C en anaerobiosis durante 72 horas. Los resultados se reportaron a través de una medida del halo de inhibición respectiva a cada muestra de cada pocillo. El ensayo se realizó por triplicado y 3 veces.

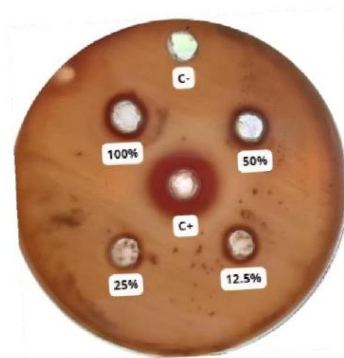


(Figura 2: A) Técnica de corte del agar para pocillos con el sacabocados, B) Diseño del método de difusión en placa petri. C-: Control negativo, C+: Control positivo)

RESULTADOS DE LOS ENSAYOS

Actividad antimicrobiana mediante el método de difusión en placa

El resultado del ensayo de actividad antimicrobiana se presenta en la figura 3 y tabla 1. Como se observa en la figura 3, cada pocillo presentó un halo de inhibición alrededor de él, siendo el de mayor diámetro el pocillo correspondiente a la clorhexidina, seguido de las concentraciones de 100, 50, 25 y 12.5%. Finalmente el pocillo que contenía el dimetilsulfóxido como control negativo no presentó ningún halo de inhibición alrededor de él.



(Figura 3: A) Halos de inhibición alrededor de los pocillos en Agar Sangre modificado)

Muestra	\bar{x} Diámetro de halo de inhibición (mm) \pm DS
Aceite esencial de Eucalipto 100%	12.56 \pm 1.24
Aceite esencial de Eucalipto 50%	11.44 \pm 1.33
Aceite esencial de Eucalipto 25%	10.22 \pm 1.01

projects@bioconsultores.net Visítenos en: www.bioconsultores.net

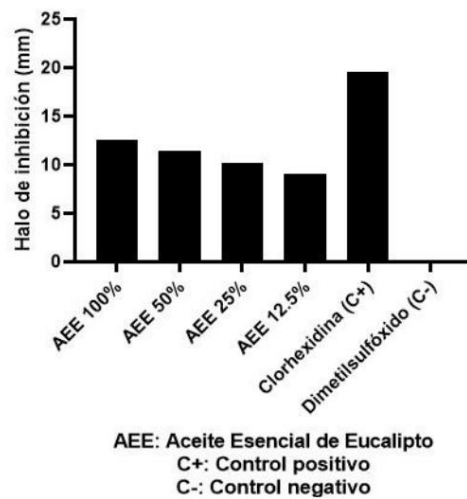
Aceite esencial de Eucalipto 12.5% 09.00±0.67

Clorhexidina (C+) 19.56±0.71

Dimetilsulfóxido (C-) 00±00

(Tabla 1: Efectividad antibacteriana del aceite esencial y los controles positivo y negativo en cultivos de *Porphyromonas gingivalis* tras 72 horas de incubación)

Efectividad Antimicrobiana del Aceite esencial de Eucalipto y Clorhexidina



(Figura 4: Comparación de la efectividad antimicrobiana del aceite esencial de Eucalipto, clorhexidina y dimetilsulfóxido frente a *Porphyromonas gingivalis*)

Prueba de hipótesis Prueba de normalidad

Se realizó una prueba de normalidad utilizando el test de Shapiro-Wilk ($n < 50$) para evaluar la distribución de los valores y si cumplían con criterios de normalidad.

Muestra	Valor p
Aceite esencial de Eucalipto 100%	0.4074
Aceite esencial de Eucalipto 50%	0.2081
Aceite esencial de Eucalipto 25%	0.0284
Aceite esencial de Eucalipto 12.5%	0.0489
Clorhexidina (C+)	0.1954

Nivel de significancia ($\alpha = 0,05$)

(Tabla 2: Análisis de normalidad por Shapiro Wilk de las muestras frente a *Porphyromonas gingivalis*)

Los datos obtenidos en la tabla 2 nos muestran la distribución de los valores e indica que las muestras correspondientes al aceite esencial de Eucalipto al 25 y 12.5% no cumplen con los criterios de normalidad y se recomienda el uso de análisis estadísticos no paramétricos como la prueba de Friedman.

PRUEBA DE FRIEDMAN

Basado en: The use of ranks to avoid the assumption of normality implicit in the analysis of variance. Journal of the American Statistical Association,

Se realizó el siguiente análisis estadístico para evaluar la significancia entre distintas muestras enfrentadas a *Porphyromonas gingivalis*. y se consideró a la prueba de Friedman pues se utilizan las mismas unidades experimentales y solo cambian las condiciones de tratamiento como la concentración del aceite esencial de Eucalipto o Clorhexidina. Los datos obtenidos en la tabla nos muestran que se obtuvo un p-value < 0.05 lo que indica diferencias significativas entre las muestras analizadas y según el test de Dunn todas las comparaciones entre nuestras muestras presentan diferencias significativas al presentar también un p-value < 0.05.

Muestra	\bar{x} Diámetro de halo de inhibición (mm) ± DS
Aceite esencial de Eucalipto 100%	12.56±1.24
Aceite esencial de Eucalipto 50%	11.44±1.33
Aceite esencial de Eucalipto 25%	10.22±1.01
Aceite esencial de Eucalipto 12.5%	09.00±0.67
Clorhexidina (C+)	19.56±0.71

Prueba de Friedman (p <0.05), Test de Dunn (p <0.05)

projects@bioconsultores.net Visítenos en: www.bioconsultores.net

DISCUSIONES LOS RESULTADOS ENCONTRADOS

La resistencia a los antimicrobianos representa uno de los principales problemas en la salud pública, por ende, se propone el uso de nuevas sustancias que puedan hacer frente a patógenos de importancia en salud humana a partir de metabolitos antimicrobianos. El presente estudio seleccionó el aceite esencial de Eucalipto como potencial antimicrobiano frente a *Porphyromonas gingivalis* siendo este un patógeno presente en muchas infecciones de la cavidad bucal como periodontitis. (4)

Los resultados obtenidos en el ensayo correspondiente a la efectividad antibacteriana del aceite esencial de Eucalipto frente a *Porphyromonas gingivalis* evidencia el potencial de esta sustancia al presentar como se observa en la figura 3 halos de inhibición alrededor de los pocillos en los cuales se dispensaron las siguientes soluciones: aceite esencial de eucalipto al 100%, 50%, 25% y 12.5%. Además, se utilizaron controles positivos y negativos, siendo estos la clorhexidina y el dimetilsulfóxido, respectivamente.

Autores como Alejo y Pineda (5) proponen el uso de aceites esenciales para hacer frente a *Porphyromonas gingivalis*, este estudio difiere del presente trabajo de investigación, pues aquellos investigadores utilizan aceite esencial de *Mintostachys* “muña” el cual presentó actividad antimicrobiana evidenciada a través de un halo de inhibición de 18 mm, los cuales son similares al que presentó aquel ensayo por difusión en placa siendo de 20 mm la cual siguiendo la escala de Duraffourd (6) se consideraría al primer resultado como una cepa sumamente sensible a aquella solución por estar dentro del rango de ≥ 20 mm, mientras que el obtenido en esta investigación alcanza los

projects@bioconsultores.net Visítenos en: www.bioconsultores.net

12.56 y 11.44 mm en un porcentaje puro de 100% y diluido al 50% lo que indica según la misma escala de Duraffourd una resultado sensible del microorganismo frente al aceite esencial, por otro lado, los resultados del aceite diluido al 25% y 12.5% obtuvieron un resultado de 10.22 y 9.00, respectivamente, lo que indica consistencia en la inhibición del aceite esencial sobre *Porphyromonas gingivalis* estando dentro del rango de 9 y 14 mm. Por otro lado comparando aquel resultado con el de fármaco Clorhexidina, este obtuvo una halo de inhibición de 31.33 mm, siendo este sumamente mayor a los presentados por el aceite esencial en todas sus concentraciones. Según León, *et al.* (7) La Clorhexidina se considera como el tratamiento periodontal por excelencia, pues este tiene un notable efecto antibacteriano el cual fue comprobado en el presente estudio, siendo incluso mayor que el del aceite esencial indicando una efectividad significativamente superior que el aceite esencial de Eucalipto frente a *Porphyromonas gingivalis*.

En el presente estudio se trabajó con aceite esencial de Eucalipto el cual, según autores como Montero, *et al.* (8) atribuyen la actividad antibacteriana de este aceite esencial a sustancias como fenoles y monoterpenos los cuales representan gran parte de la composición en este aceite esencial y según su investigación este se debe principalmente a su interacción directa con el citoplasma bacteriano causando daños finalmente en su membrana celular.



Dr. Mario Alcarraz Curi
Jefe de laboratorio

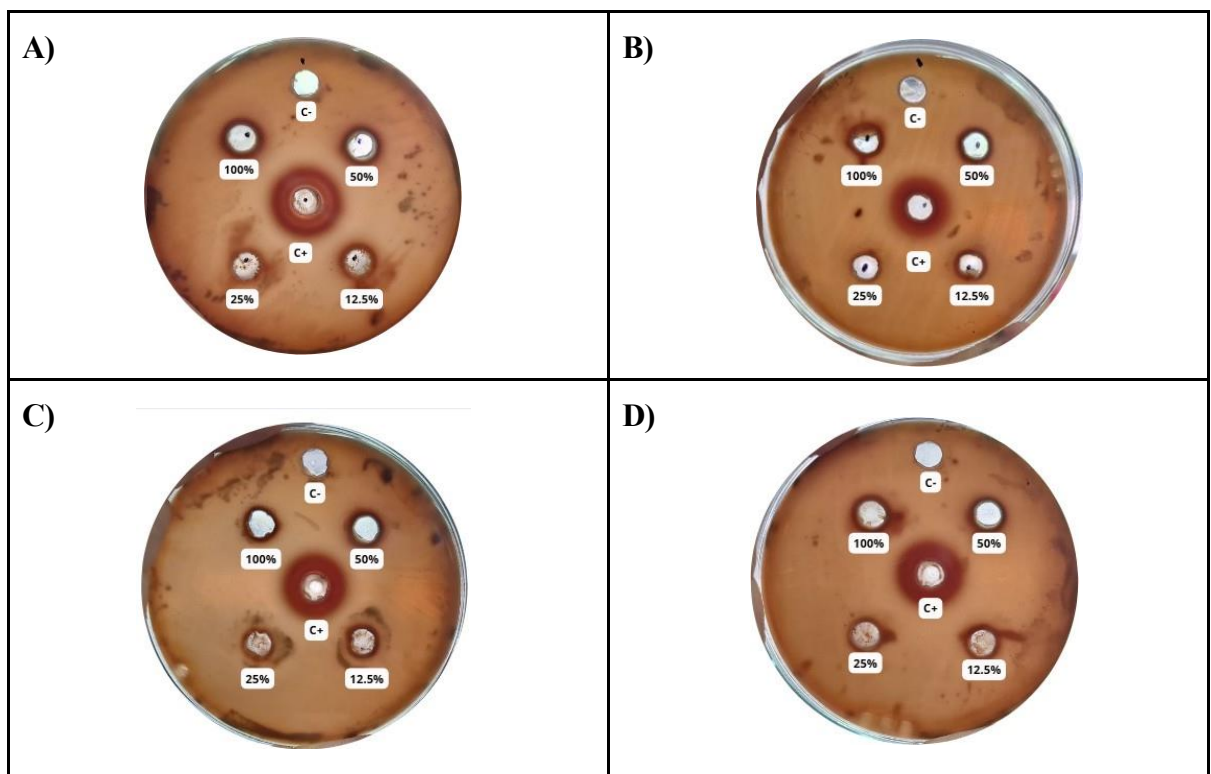


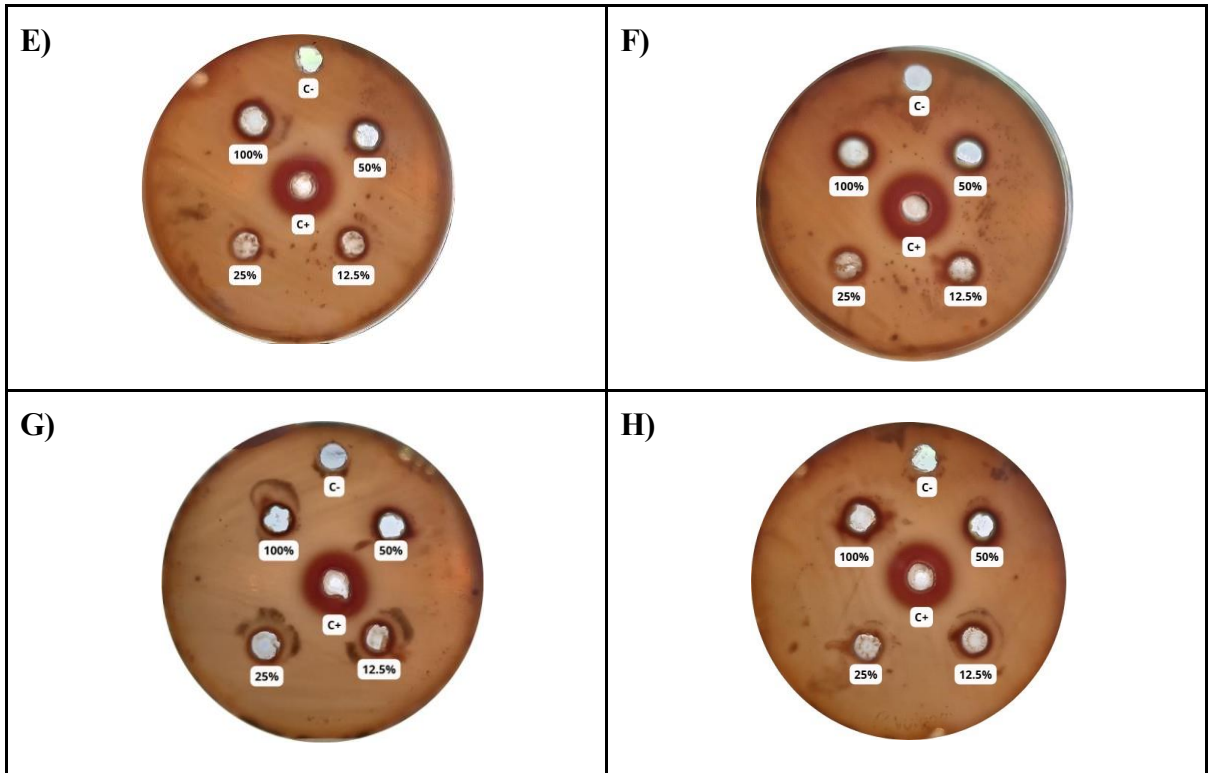
projects@bioconsultores.net Visítenos en: www.bioconsultores.net

Anexo 8: Resultados

Muestra	Clorhexidina	100%	50%	25%	12.50%
R1	18	14	12	11	8
R2	19	15	12	11	9
R3	19	12	11	10	9
R4	20	12	10	10	9
R5	18	11	10	10	9
R6	20	12	12	10	10
R7	20	13	12	10	9
R8	20	11	11	10	9
R9	22	13	13	11	10

(Tabla 1: Resultados de la acción antibacteriana del aceite esencial de Eucalipto)





(Tabla 2: Resultados de la actividad antibacteriana del aceite esencial en Agar Sangre modificado A) R1, B) R2, C) R3, D) R4, E) R5, F) R6

Anexo 9: Informe del asesor de turnitin

Reporte de similitud

NOMBRE DEL TRABAJO

Tesis

AUTOR

Sergio Quispe

RECuento DE PALABRAS

13768 Words

RECuento DE CARACTERES

74634 Characters

RECuento DE PÁGINAS

66 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

944.4KB

FECHA DE ENTREGA

Mar 20, 2025 8:50 PM GMT-5

FECHA DEL INFORME

Mar 20, 2025 8:51 PM GMT-5

● 10% de similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 10% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 4% Base de datos de trabajos entregados
- 0% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● Excluir del Reporte de Similitud

- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 10 palabras)

Anexo 10: Fotos

1.- Fotos de equipamiento

Autoclave



Incubadora a 37°C



Micropipeta



Caja con tips de Micropipeta



Jarra de Anaerobiosis



Vórtex

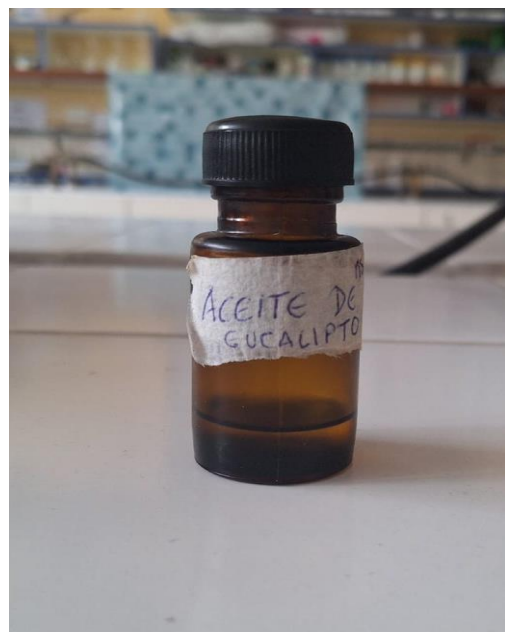


2.- Insumos y Reactivos

Dimetilsulfóxido (DMSO)



Aceite esencial de Eucalipto



Mucoxidina (Clorhexidina)

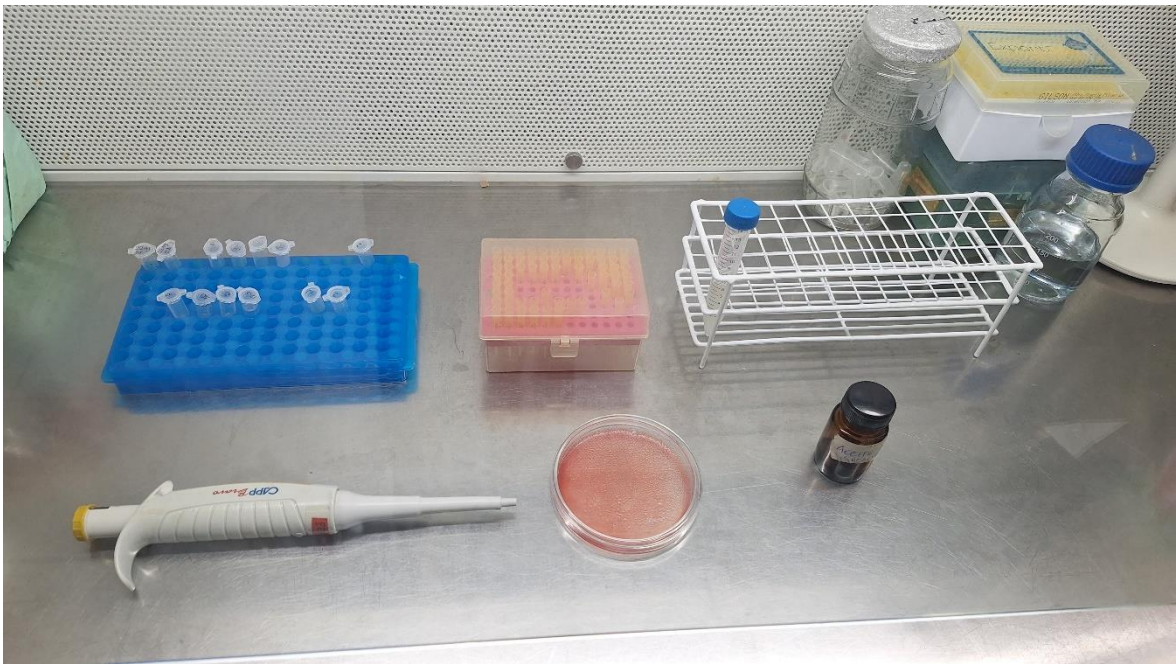


3.- Cepa Microbiológica

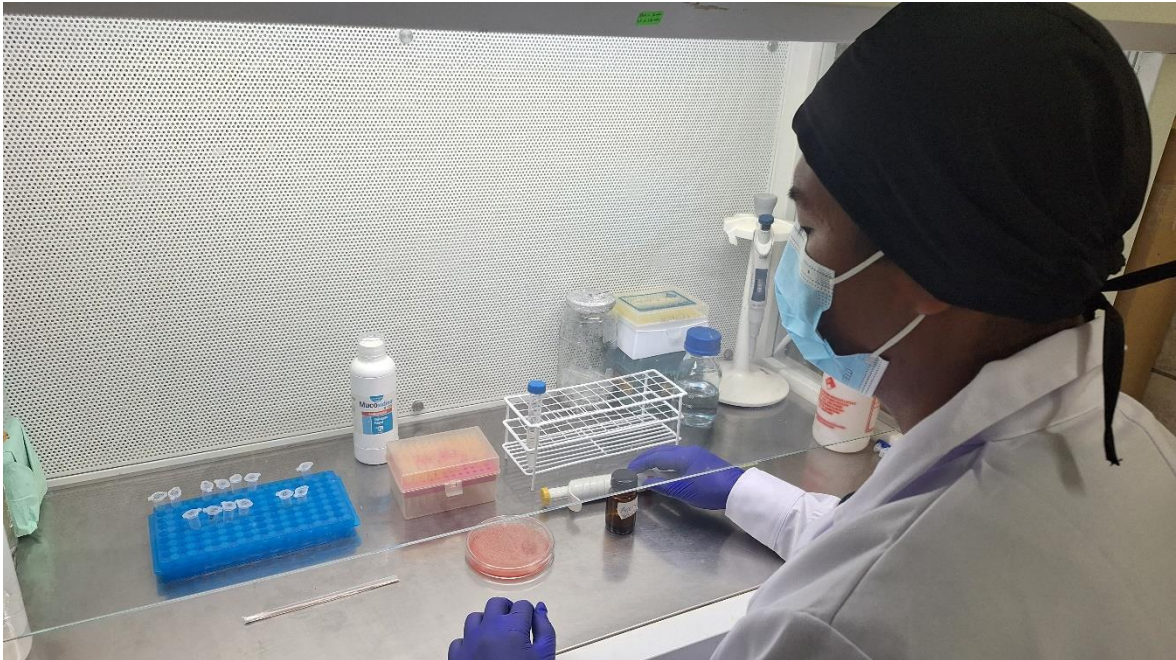
Porphyromonas gingivalis ATCC 33277



4.- Protocolo de preparación del inóculo de *Porphyromonas gingivalis*

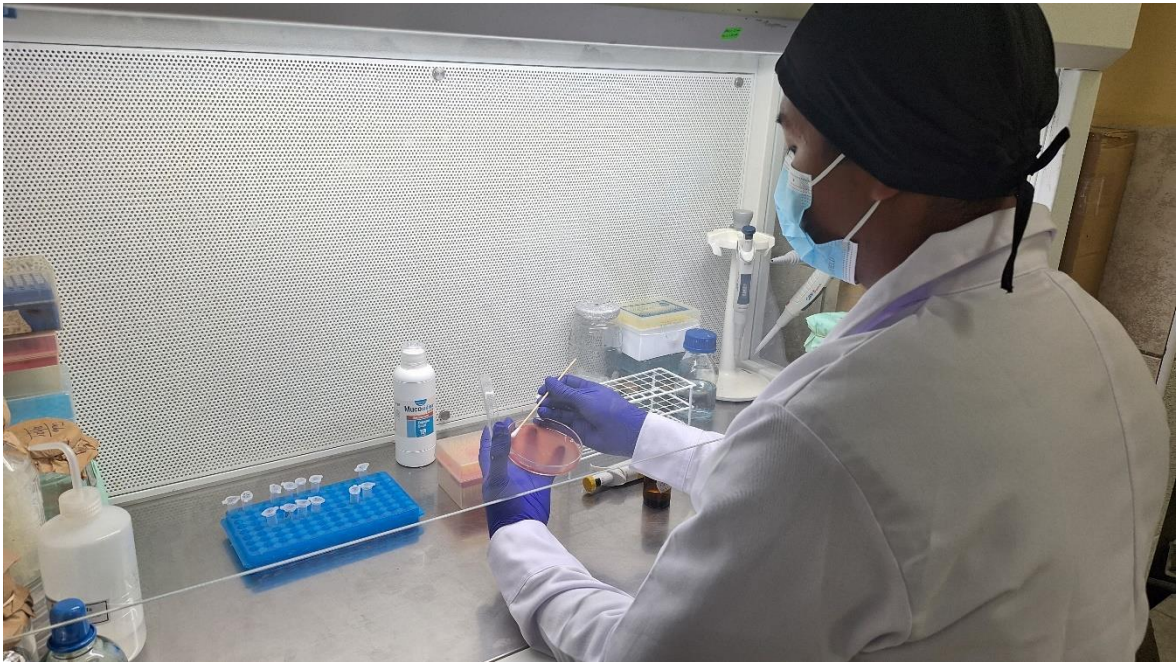
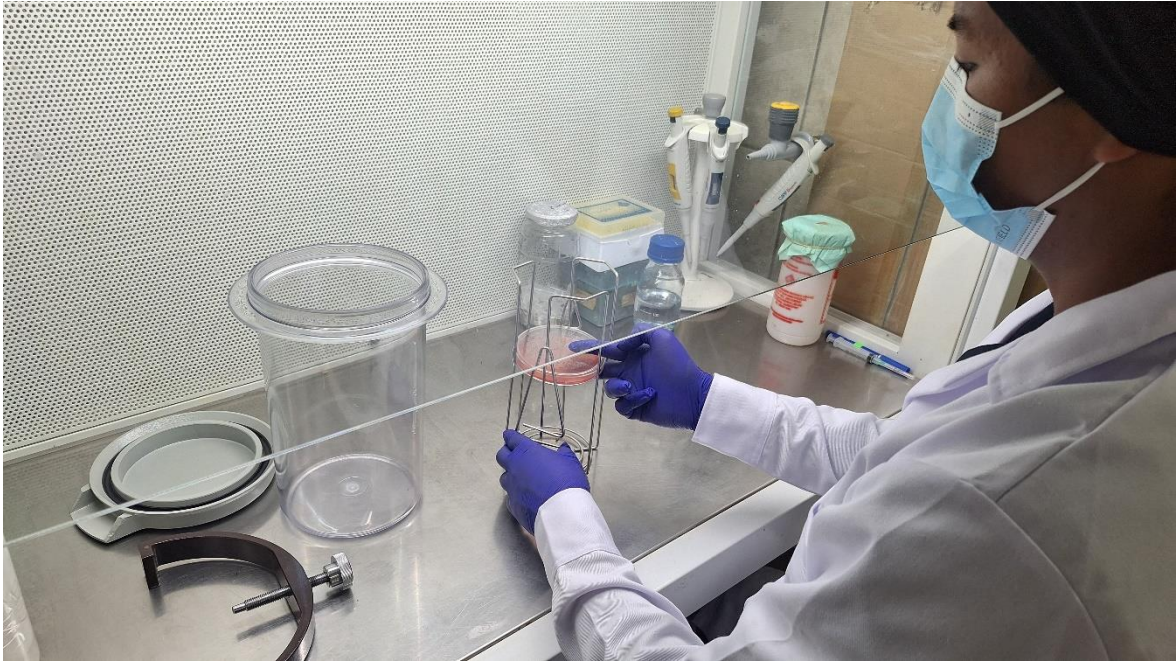


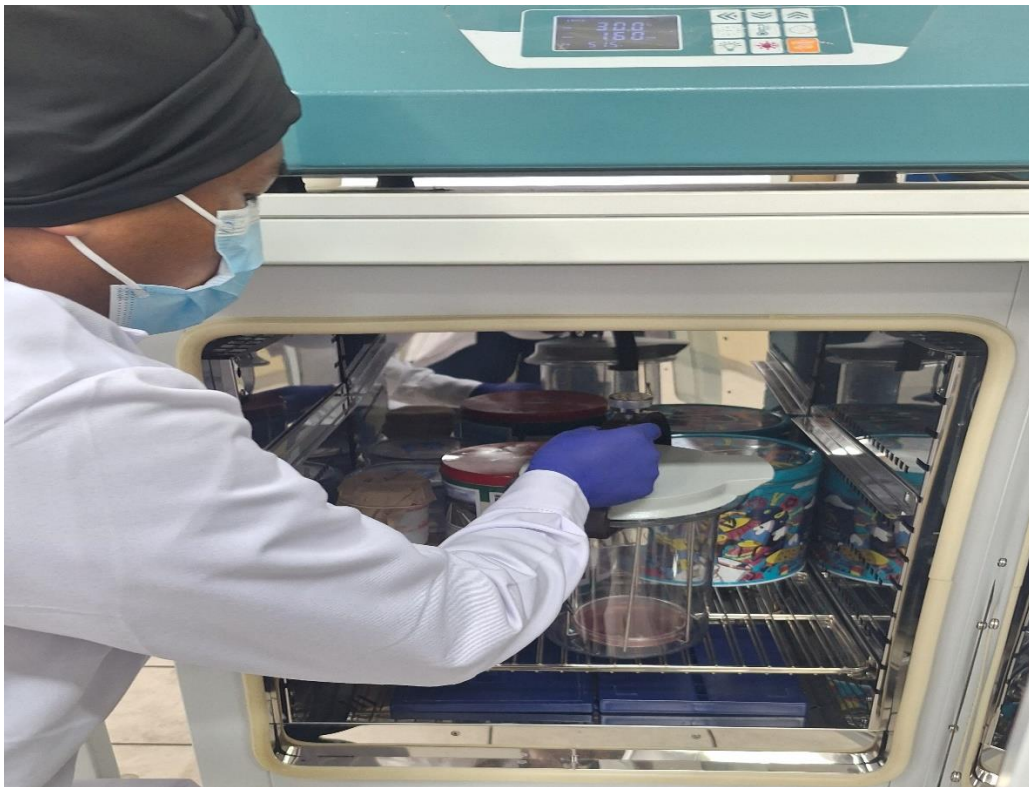
5.- Enfrentamiento de la actividad antimicrobiana: Clorhexidina (Control positivo) frente a *Porphyromonas gingivalis*



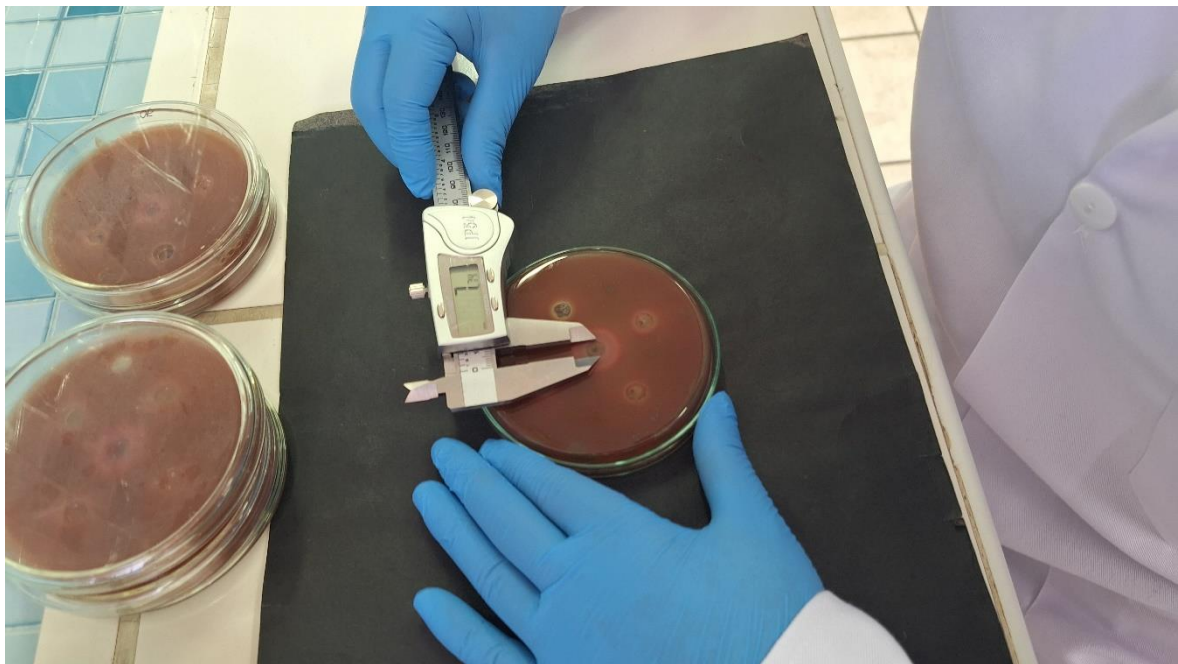
6.- Disposición de placas en una jarran de anaerobiosis







7.- Medición de los diámetro de los halos de inhibición obtenidos en el enfrentamiento frente a *Porphyromonas gingivalis*





8.- Disposición de la jarra de anaerobiosis en una incubadora estática para el crecimiento de *Porphyromonas gingivalis*



9.- Recopilación de datos obtenidos: Expresión en milímetros de los halos de inhibición en el enfrentamiento del aceite esencial de Eucalipto frente a *Porphyromonas gingivalis*



● 10% de similitud general

Principales fuentes encontradas en las siguientes bases de datos:

- 10% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 4% Base de datos de trabajos entregados
- 0% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

FUENTES PRINCIPALES

Las fuentes con el mayor número de coincidencias dentro de la entrega. Las fuentes superpuestas no se mostrarán.

1	repositorio.uwiener.edu.pe Internet	4%
2	repositorio.unheval.edu.pe Internet	1%
3	hdl.handle.net Internet	<1%
4	dspace.unitru.edu.pe Internet	<1%
5	ucsm.edu.pe Internet	<1%
6	1library.co Internet	<1%
7	repositorio.uandina.edu.pe Internet	<1%
8	repositorio.continental.edu.pe Internet	<1%