

UNIVERSIDAD PRIVADA DE TACNA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGIA



“ACCION ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Cinnamomum zeylanicum* Breyn (canela) FRENTE A *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 EN COMPARACION CON CLORURO DE CETILPIRIDINIO AL 0.05% Y CLORHEXIDINA AL 0.12%. ESTUDIO IN VITRO”.

TESIS

Presentada por:

Bach. MARIANELA YNES CARPIO LIMACHI

Para optar el título profesional de:

CIRUJANO DENTISTA

Tacna-Perú

2015

DEDICATORIA

A mis padres Augusto y Aurelia, que día a día hicieron muchos sacrificios para que pudiera conseguir este logro, por darme su paciencia y apoyo infinito. Mi triunfo es el de ustedes.

A mi adorada hija Ainhoa, quien me prestó el tiempo que le pertenecía para enrumbar en esta aventura hace 5 años y que hoy puedo decir que la culminamos. Darle las gracias, porque ella tuvo que soportar largas horas sin la compañía de su mamá, sin poder entender a su tierna edad, el por qué prefería estar leyendo muchos libros y no acostada o jugando con ella. A pesar de eso, cada vez que podíamos aprovechábamos momentos felices en los que con su sola sonrisa me daba ánimo y fuerzas para continuar.

A mis hermanos César y Rebeca, quienes también me apoyaron en el cuidado de mi hija desde que nació, mientras realizaba mis estudios.

A Julio, quien a pesar de todo, me apoyó durante todo este tiempo.

A mis tíos y primas, que me dieron todos estos años su apoyo moral incondicional para que logre mis objetivos.

A todos los que nunca dudaron en que podría lograr esta meta.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, que me dio la fe, la fortaleza, la salud y esperanza de poder terminar esta carrera.

A mi asesora, la Dra. Ángela Aquize Díaz, por brindarme su tiempo, apoyo y consejos para la realización de este presente trabajo.

A mi asesor, el Blgo. Mblgo. Edwin Obando Velarde, por su constante apoyo, paciencia, dedicación y su valiosa asesoría, para la culminación de este trabajo.

A la UNJBG por brindarme su apoyo en la realización de la parte experimental de mi trabajo, en especial a la Facultad de Ciencias.

CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	
ABSTRACT	
INTRODUCCION	1
CAPITULO I: EL PROBLEMA DE INVESTIGACION	3
1.1 Fundamentación del problema	4
1.2 Formulación del problema	6
1.3 Objetivos de la investigación	6
1.3.1. Objetivo General	6
1.3.2. Objetivos Específicos	6
1.4 Justificación	8
1.5 Definición de términos	9
CAPITULO II: REVISION BIBLIOGRAFICA	11
2.1 Antecedentes de la Investigación	12
2.2 Marco Teórico	14
2.2.1 Enfermedad Periodontal	14
2.2.1.1 Epidemiología	15
2.2.1.2 Etiología	16
2.2.1.3 Microbiología	17
A. Película adquirida	17

B. Mecanismo de formación de la PA	19
2.2.2 Género Porphyromonas	24
2.2.2.1 Descripción	24
2.2.2.2 Taxonomía	25
2.2.2.3 Nutrición	25
2.2.2.4 Factores de virulencia	26
2.2.2.5 Fisiopatología	32
2.2.3 Control químico de la placa bacteriana como terapia coadyuvante:	33
2.2.3.1 Compuestos de Amonio cuaternario: Cloruro de Cetilpiridinio	34
A. Estudios microbiológicos y clínicos	35
B. Efectividad y sustentividad	35
C. Ventajas y desventajas	36
2.2.3.2 Clorhexidina	37
A. Estructura química	37
B. Mecanismo de acción	38
C. Estudios microbiológicos y clínicos	40
D. Efectividad y sustentividad	40
E. Ventajas y desventajas	40
F. Toxicidad	42
G. Medios de presentación y formas comerciales	43

H. Concentraciones	43
2.2.4 Fitoterapia	47
2.2.4.1 Plantas medicinales	47
2.2.4.2 Aceites esenciales	48
A. Definición	48
B. Propiedades	50
C. Localización y distribución	51
D. Composición química	52
E. Extracción de los aceites esenciales	53
F. Usos de los aceites esenciales	55
2.2.4.3 Descripción de la <i>Cinnamomum zeylanicum</i> <i>Breyn</i>	57
(Canela)	
A. Descripción	57
B. Hábitat	57
C. Taxonomía	58
D. Composición química	58
E. Propiedades medicinales	58
CAPITULO III HIPÓTESIS, VARIABLES Y	60
DEFINICIONES OPERACIONALES	
3.1 Hipótesis	61
3.2 Operacionalización de las variables	62

CAPITULO IV METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	63
4.1 Diseño	64
4.2 Ámbito de estudio	64
4.3 Población y muestra	64
4.4 Material de laboratorio	64
4.5 Metodología	67
4.5.1 Diseño experimental utilizado	66
4.5.2 <i>Cinnamomum zeylanicum Breyn</i> (canela)	66
4.5.2.1 Recolección	66
4.5.2.2 Extracción del aceite esencial	67
4.5.2.3 Determinación de la densidad <i>Cinnamomum zeylanicum Breyn</i> (canela)	69
4.4.2.4 Rendimiento de aceite esencial (RAE)	70
4.5.3 Clorhexidina al 0,12%	71
4.5.3.1 Determinación de la concentración de Clorhexidina al 0,12%	71
4.5.4 Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05%	71
4.5.4.1 Determinación de la concentración de Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05%	71
4.5.5 Cepa Bacteriana <i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277	72
4.5.5.1 Activación de la cepa bacteriana	72
4.5.5.2 Preparación del Inóculo	72

4.5.6 Evaluación de la acción antibacteriana de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Breyn (canela)	72
4.5.6.1 Preparación de los discos de sensibilidad	73
4.5.6.2 Preparación del medio para la prueba de sensibilidad	73
4.5.6.3 Inoculación	73
4.5.6.4 Incubación	74
4.5.6.5 Lectura	75
4.5.6.6 Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) para <i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277	75
A. Preparación del inóculo bacteriano	76
B. Preparación de la solución madre	76
C. Preparación de la Concentración mínima inhibitoria	77
D. Incubación	78
E. Lectura	78
4.5.6.7 Determinación de la Concentración mínima Bactericida (CMB)	78
4.5.7 Evaluación de la acción antibacteriana de Clorhexidina al 0,12%	79
4.5.7.1 Preparación del medio para la prueba de sensibilidad	79
A. Inoculación	79
B. Incubación	79
C. Lectura	79

4.5.8 Evaluación de la acción antibacteriana de Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05%	80
4.5.8.1 Preparación del medio para la prueba de sensibilidad	81
A .Inoculación	81
B. Incubación	81
C. Lectura	81
CAPITULO V PROCEDIMIENTOS DE ANALISIS DE DATOS	84
CAPITULO VI RESULTADOS	85
CAPITULO VII DISCUSION	104
CONCLUSIONES	111
RECOMENDACIONES	112
BIBLIOGRAFIA	113
ANEXOS	

INDICE DE IMÁGENES Y GRÁFICOS

	Pág.
IMAGEN N°1	24
IMAGEN N°2	35
IMAGEN N°3	38
GRAFICO N° 1	89
GRAFICO N°2	90
GRAFICO N° 3	92
GRAFICO N° 4	98

INDICE DE TABLAS Y CUADROS

	Pág.
TABLA N° 1	74
TABLA N° 2	77
TABLA N°3	79
TABLA N° 4	80
TABLA N° 5	81
TABLA N° 6	82
CUADRO N° 1	87
CUADRO N° 2	88
CUADRO N° 3	89
CUADRO N° 4	90
CUADRO N° 5	91
CUADRO N° 6	93
CUADRO N° 7	94
CUADRO N° 8	95
CUADRO N° 9	96
CUADRO N° 10	97
CUADRO N° 11	99
CUADRO N° 12	100
CUADRO N° 13	101

RESUMEN

Objetivo: Determinar acción antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Breyn* “canela” frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 en comparación con Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05% y Clorhexidina al 0,12%. Metodología: Mediante el método de difusión en disco (Kirby Bauer), se conoció el grado de sensibilidad en función al tamaño del halo de inhibición; por el método de dilución en medio líquido se encontró la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y por difusión en agar se encontró la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del aceite esencial. Resultados: Se determinó que *Porphyromonas gingivalis* mostró no ser sensible al Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05%, tener sensibilidad límite a la Clorhexidina al 0,12% y ser muy sensible al aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Breyn* “canela”. La CMI para *Porphyromonas gingivalis* es de 0,39393mg/ml. y CMB es de 0,40852mg/ml. Conclusión: El aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum Breyn* “canela” presenta acción antibacteriana sobre *Porphyromonas gingivalis* y es mayor que Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05% y Clorhexidina al 0,12%.

Palabras clave: *Cinnamomum zeylanicum Breyn*, aceite esencial, *Porphyromonas gingivalis*, halo de inhibición, CMI, CMB.

ABSTRACT

To determine antibacterial activity in vitro of essential oil of *Cinnamomum zeylanicum* Breyn "canela" against *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 compared with Cetylpyridinium Chloride to 0,05% and Chlorhexidine to 0,12%. Methodology: Using the disk diffusion method (Kirby Bauer), the sensitivity is met according to the size of the zone of inhibition; by dilution method in liquid medium Minimum Inhibitory Concentration (MIC) it was found and the agar diffusion minimum bactericidal concentration (MBC) of the essential oil was found. Results: It was found that *Porphyromonas gingivalis* was not sensitive Cetylpyridinium Chloride 0.05%, limitless sensitivity to Chlorhexidine 0.12% and be very sensitive to the essential oil of *Cinnamomum zeylanicum* Breyn "canela". The MIC is *Porphyromonas Gingivalis* 0,39393mg/ml. and CMB is 0,40852mg/ml. Conclusion: *Cinnamomum zeylanicum* Breyn "canela" essential oil has antibacterial action on *Porphyromonas gingivalis* and greater than Cetylpyridinium Chloride to 0.05% and Chlorhexidine to 0,12%.

Keywords: *Cinnamomum zeylanicum* Breyn, essential oil, *Porphyromonas gingivalis*, inhibition zone, CMI, CMB.

INTRODUCCION

La cavidad bucal es un ambiente ampliamente colonizado por bacterias, que en condiciones normales son propias de dicho hábitat pues viven en constante armonía, no produciendo de esta manera enfermedad. Sin embargo, cuando éste equilibrio se altera o rompe se generan enfermedades producto de bacterias oportunistas o simplemente por predominio de una de ellas.

En la actualidad, en el Perú, según el Ministerio de Salud, entre las enfermedades de la cavidad oral de más alta incidencia se encuentran la caries dental y las enfermedades gingivoperiodontales, observándose un incremento sustancial en cuanto a la incidencia de éstas. ⁽¹⁾

Las enfermedades gingivoperiodontales son procesos infecciosos cuyo factor etiológico esencial es la Biopelícula de la placa dental, muy común entre los seres humanos, considerada como un problema de salud pública en muchas partes del mundo. La prevención y tratamiento para estas enfermedades, se enfoca directamente hacia la reducción de la placa bacteriana y terapia sistémica y/o local mediante agentes para el control de la placa dental como son colutorios, dentífricos, etc.

En los últimos tiempos se ha revalorado los efectos beneficiosos de plantas medicinales, utilizándolas en la composición de diversos productos destinados al control de la placa bacteriana, como cremas dentales y colutorios.

La *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela) es conocida por sus propiedades terapéuticas antibacterianas sustentadas en diversos estudios científicos. Las investigaciones realizadas en el área odontológica, demuestran que presenta actividad antibacteriana in vitro frente a bacterias y hongos presentes en la cavidad oral.

En la enfermedad periodontal, existen bacterias periodontopatógenas, siendo la más representativa *Porphyromonas gingivalis*, la cual tiene mayor prevalencia en la periodontitis crónica motivo por el cual será objeto de estudio en esta investigación.

Por lo tanto, la presente investigación tiene como objetivo determinar la acción antibacteriana “in vitro” del aceite esencial de la *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela) frente a *Porphyromonas gingivalis ATCC 33277* en comparación con Cloruro de Cetilpiridinio al 0.05% y Clorhexidina al 0.12% , constituyendo de esta manera una posible alternativa para la prevención de las enfermedades gingivoperiodontales, así como establecer una base para una elaboración futura de un producto aplicable en la práctica odontológica, empleando como en este caso, un recurso disponible en nuestro medio.

CAPÍTULO I:

EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 FUNDAMENTACIÓN DEL PROBLEMA:

La caries dental, así como la enfermedad periodontal, son enfermedades tan antiguas como el hombre, a medida que transcurre la historia se encuentran más evidencias que su prevalencia y gravedad han aumentado con el paso de los años. Su tratamiento pasó desde la mezcla de cerveza, aceites y plantas aplicados sobre los dientes, mediante conjuros, por los Asirios y mediante masaje gingival con diversas hierbas medicinales, realizados por los Babilonios hace aproximadamente 1 000 años A.C.,⁽²⁾ hasta las más modernas y costosas técnicas terapéuticas empleadas en la actualidad.

Con el desarrollo de las teorías de la evolución y herencia genética, el uso del microscopio y el nacimiento de ciencias como la Fitoquímica y de técnicas como el análisis instrumental, fue posible el reconocimiento y aislamiento de los principios activos de muchas plantas medicinales.

Por ello, actualmente, las plantas medicinales recuperan parte del protagonismo que tuvieron en los primeros tratamientos médicos. La medicina natural a partir de las plantas y sus propiedades, ha recibido últimamente mucha atención por parte de los científicos, quienes van descubriendo nuevos compuestos y propiedades de los mismos, confirmando así su utilidad para combatir agentes patógenos y tratar diversas afecciones.

Entre la microbiota bacteriana periodontopatógena que existe en la enfermedad periodontal se encuentra *Porphyromonas gingivalis* que es un bacilo Gram negativo predominante en la Periodontitis Crónica, sus múltiples factores de virulencia la hacen sumamente agresiva.

Considerando que uno de los factores etiológicos de la enfermedad periodontal es de causa infecciosa (placa bacteriana), el tratamiento se enfoca fundamentalmente en el control de la infección y reducción de la inflamación.

Hoy en día existe una gran variedad de agentes antimicrobianos para tratar la enfermedad periodontal como son los fármacos, dentro de los cuales tenemos a los colutorios o antisépticos que conjuntamente con el cepillado dental y otros medios de prevención son usados para lograr la eliminación del biofilm oral e impedir así la progresión de la enfermedad periodontal. Sin embargo, muchos antisépticos de uso odontológico presentan efectos secundarios adversos, como irritabilidad en los tejidos, tinción dental, alteración en el sabor de alimentos, etc., razones que limitan su uso.

En el Perú, existe una gran biodiversidad botánica y eso hace mucho más importante el hecho de considerar el estudio de cada una de las plantas para conocer más a fondo sus verdaderas propiedades y sus principios activos, ya que no sólo son útiles a nivel medicinal, sino también abarcan otras áreas.

Asimismo, es necesario evaluar también los aceites esenciales de éstas plantas, donde diversas investigaciones han permitido establecer su actividad antibacteriana, antimicótica, antiparasitaria, antiviral e insecticida.

Por todo lo expuesto, el propósito de la presente investigación es determinar la acción antibacteriana del aceite esencial de la *Cinnamomum zeylanicum* Breyn (canela) frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 en comparación con el Cloruro de Cetilpiridinio al 0.05% y la Clorhexidina al 0,12%.

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA:

¿Cuál es la acción antibacteriana del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela) a diferentes concentraciones frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 en comparación con el Cloruro de Cetilpiridinio al 0.05% y la Clorhexidina al 0,12%?

1.3 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN:

1.3.1. Objetivo General:

- Determinar la acción antibacteriana in vitro del aceite esencial obtenido de la corteza de la *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela) a diferentes concentraciones frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 en comparación con Cloruro de Cetilpiridinio al 0.05% y Clorhexidina al 0,12%.

1.3.2. Objetivos Específicos:

- Evaluar el grado de sensibilidad que presenta *Porphyromonas gingivalis* al aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (Canela), mediante la técnica de difusión en disco.
- Hallar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela) frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277.
- Establecer la concentración mínima bactericida (CMB) del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela) frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277.
- Especificar la comparación de la acción antibacteriana del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela) frente al Cloruro de Cetilpiridinio al 0.05% por medio de la técnica de difusión en disco.

- Especificar la comparación de la acción antibacteriana del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* **Breyn** (canela) frente a la Clorhexidina al 0.12% por medio de la técnica de difusión en disco.

1.4 JUSTIFICACIÓN:

El motivo por el que decidimos realizar esta investigación es que hemos podido observar que los colutorios o antisépticos químicos presentan muchas veces reacciones adversas o efectos secundarios a largo plazo, los cuales no son beneficiosos para nuestra salud bucal. Además de ello, queremos aportar a la comunidad científico-odontológica sobre la existencia de aceites esenciales que presentan propiedades antibacterianas, dentro de las cuales se encuentra el aceite esencial de la *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela), ya que podría ser una alternativa para la prevención de caries y enfermedades gingivoperiodontales actuando sobre el biofilm oral, o si es que la enfermedad periodontal está ya instaurada, pueda servir como terapia coadyuvante.

De esta manera, la elaboración de fármacos naturales, tendría un impacto importante en la sociedad científica, gracias a las bondades de la medicina tradicional, generando así una variedad de productos de uso farmacéutico de origen natural, las que puedan llegar a todas las poblaciones incluyendo a las de bajos o limitados recursos económicos por su bajo coste.

1.6 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS:

- **Enfermedad Periodontal:** Enfermedad crónica que afecta a las encías y a la estructura de soporte de los dientes.
- **Porphyromonas gingivalis:** Principal especie patógena para los tejidos periodontales. Aparece en todos los tipos de Periodontitis y tiene importantes factores de virulencia.
- **Biofilm oral:** Acumulación heterogénea de una comunidad microbiana variada, aerobia y anaerobia, rodeada por una matriz intercelular de polímeros de origen salival y microbiano. Estos microorganismos pueden adherirse o depositarse sobre las paredes de las piezas dentarias. Su presencia puede estar asociada a la salud, pero si los microorganismos consiguen los sustratos necesarios para sobrevivir y persisten mucho tiempo sobre la superficie dental, pueden organizarse y causar caries, gingivitis o enfermedad periodontal.
- **Aceite Esencial:** Son mezclas de sustancias obtenidas de plantas, que presentan como características principales su completa composición química y su carácter fuertemente aromático.
- **Acción antibacteriana de un aceite esencial:** Cualidad del aceite esencial consistente en eliminar o inhibir el crecimiento de las bacterias patógenas que se desarrollan en un medio dado, al actuar sobre ellas indirecta (obstaculizando el desarrollo bacteriano) o directamente (ocasionando la muerte de la célula bacteriana).
- **Halo de inhibición:** Zona alrededor de un disco de antibiótico en un antibiograma en el que no se produce crecimiento bacteriano en una placa de agar inoculada con el germen. Es una medida de la potencia del antibiótico frente al germen.
- **Concentración mínima Inhibitoria (CMI):** Es la concentración más baja de un antimicrobiano que inhibe el crecimiento de un microorganismo después de su incubación.

- **Concentración mínima Bactericida (CMB):** Es la mínima cantidad de antibiótico capaz de destruir el 99,9% de una muestra inoculada en condiciones estandarizadas.
- **Principio Activo:** Sustancia química responsable de actividad farmacológica y del uso terapéutico de una droga.
- **Colutorio:** Es una forma farmacéutica tipo solución acuosa viscosa usada para el tratamiento tópico de afecciones bucales
- **Antibacteriano:** Fármaco capaz de inhibir el crecimiento y desarrollo de bacterias o su eliminación sin dañar el organismo infectado.
- **Bactericida:** es aquel que produce la muerte a una bacteria. Un efecto bactericida está producido por sustancias bactericidas. Proviene el sufijo *cida*, derivado del termino latino *caedere*, que significa matar, por lo tanto bactericida es un agente que mata las bacterias.
- **Bacteriostático:** Sufijo que proviene de la raíz griega *stasis*, que significa detención, ósea que no se mueve o no cambia. El término bacteriostático quiere decir que detiene el metabolismo bacteriano, ósea que inhibe o impide el crecimiento de las bacterias, pero estas permanecen viables, es decir que si quitamos el bacteriostático, lo diluimos o neutralizamos, las bacterias volverán a desarrollarse. Algunos antibióticos tienen este efecto, por lo tanto, actúan inhibiendo las bacterias, dándole oportunidad al sistema de defensa del hospedero para que las elimine.
- **Bacteriolítico:** El sufijo lítico deriva de la raíz griega *lisis*, que significa disolver, por lo tanto, bacteriólisis etimológicamente significa disolución o destrucción de bacterias. Este sufijo es más empleado con la acción de enzimas capaces de disolver algo, lo cual se denota como lisis.

CAPITULO II:

REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACION:

Marca Cuello, M. (2013) evaluó la Actividad Antimicótica “in vitro” del aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum Breyn* “canela” frente a *Cándida albicans* ATCC 6538. El objetivo de este estudio fue determinar la actividad antimicótica del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela) frente a *Cándida albicans* ATCC 6538. Se obtuvo el aceite esencial de las cortezas *Cinnamomum zeylanicum Breyn* mediante destilación por arrastre de vapor. Utilizando los métodos de Kirby Bauer, se conoció el grado de sensibilidad en función al tamaño de los halos de inhibición, Por dilución en medio líquido se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y por difusión en agar, la Concentración Mínima Fungicida (CMF) del aceite esencial. Los resultados fueron que *Cándida albicans* presenta alta sensibilidad al aceite esencial. La CMI para *Cándida albicans* fue de 0,01895 mg/ml y la CMF fue de 0,020529166 mg/ml. Se llegó a la conclusión que el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela) presenta actividad antimicótica frente a *Cándida albicans*.⁽³⁾

Ramos Clemente W. (2012) Actividad antibacteriana del extracto de *Erythroxylum* (coca) sobre *Porphyromonas gingivalis*, estudio in vitro. El estudio investigó la actividad antibacteriana, mediante el test de difusión en Agar y la prueba de dilución en medio líquido. Los resultados del primer estudio indicaron que el extracto de *Erythroxylum* “coca” tiene sensibilidad nula (-) para la mayor parte de las concentraciones evaluadas, y sensibilidad límite (sensibilidad: +) para la máxima concentración del extracto (100 %) sobre el crecimiento, in vitro, de la bacteria *Porphyromonas gingivalis*. Los resultados del segundo estudio determinaron una concentración mínima del extracto, capaz de inhibir el crecimiento de dicha bacteria. Este valor fue 6.25 %, el cual representa la concentración mínima inhibitoria (CMI).⁽⁴⁾

Lagos la Rosa, E. (2012) investigó la Actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial *Thymus vulgaris* L. “tomillo” frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 causante de Gingivitis. Mediante el método de

difusión de disco (Kirby Bauer), se conoció el grado de sensibilidad en función al tamaño del halo de inhibición; por el método de dilución en medio líquido se encontró la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y por difusión en agar se encontró la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del aceite esencial. Resultados: Se determinó que *Porphyromonas gingivalis* es muy sensible al aceite esencial. La CMI para *Porphyromonas gingivalis* es 0,31 mg/ml y CMB es 0,37 mg/ml. La conclusión a la que llegó fue que el aceite esencial de *Thymus vulgaris* L. “Tomillo” presenta actividad antibacteriana sobre *Porphyromonas gingivalis* causante de gingivitis.⁽⁵⁾

Fani M., Kohanteb J. (2011) evaluaron la **Actividad Inhibitoria del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* y *Eucalyptus globulus* frente a especies aisladas de pacientes con infecciones orales de *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* y *Cándida*.** El objetivo de este estudio fue investigar la actividad antimicrobiana de los aceites de canela y eucalipto contra éstos microorganismos de la cavidad oral. Los aceites se prepararon por destilación de vapor y su actividad inhibidora a concentraciones diferentes. Los datos fueron analizados mediante Chi cuadrado y prueba estadística de Fisher. Los resultados fueron que todos los aislamientos de bacterias y hongos son sensibles a la canela y eucalipto. El aceite de canela mostró una fuerte actividad inhibitoria ante el *S. mutans* en una concentración tan baja como 3,12%. El aceite de eucalipto mostró menos actividad inhibitoria, la concentración menos efectiva de este aceite fue de 25%. La CMI de canela y aceite de eucalipto osciló 12.8- 51.2 y / 64-256mg/ml, respectivamente. La conclusión fue que tanto los aceites de canela y eucalipto mostraron actividad antimicrobiana, pero varió en cuanto a su eficacia. El aceite de canela mostró actividad inhibitoria más fuerte medida por la determinación de la CMI. El *S. mutans*, agente etiológico de la caries dental, fue muy sensible al aceite de canela y por lo tanto puede ser utilizado como un antiséptico en la pasta dental, enjuague bucal o goma de mascar para la prevención de la caries dental y otras infecciones orales.⁽⁶⁾

Kamal A., Radhika J., Chetan Sh. (2009) determinaron la **Actividad antimicrobiana de la corteza de *Cinnamomum zeylanicum***. El objetivo del estudio fue evaluar el potencial antimicrobiano de la corteza de canela con la finalidad de conseguir un extracto como remedio para patógenos de caries dentales, se probaron 5 extractos (acetónico, etanólico, metanólico y acuosos frío y caliente) contra dos bacterias y dos levaduras mediante el método de difusión en agar. El extracto etanólico, metanólico y el acetónico mostraron mayores actividades antimicrobianas contra las bacterias probadas (*Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*) y las levaduras (*Cándida albicans* y *Saccharomyces cerevisiae*). El extracto acetónico mostró una mayor actividad antimicrobiana que los otros. Se observó una fuerte actividad antifúngica con el extracto acetónico contra *C. albicans* (zona de inhibición 29.30mm y 12,5 mg / ml MIC) que muestra mayor zona de inhibición que el estándar antifúngico anfotericina B de drogas (zona de 13 mm de inhibición).⁽⁷⁾

2.2 MARCO TEORICO:

2.2.1 ENFERMEDAD PERIODONTAL:

El periodonto es un conjunto de estructuras tisulares que constituyen una unidad de desarrollo, biológica y funcional. Conformado por la encía, el cemento radicular, el hueso alveolar y el ligamento periodontal. La función principal del periodonto consiste insertar el diente al tejido óseo de los maxilares y en mantener la integridad en la superficie de la mucosa masticatoria de la cavidad bucal. ⁽⁸⁾

El término enfermedad periodontal describe un grupo en infecciones localizadas que afectan los tejidos que soportan y rodean los dientes. Los dos tipos más comunes de enfermedad periodontal son la gingivitis y la periodontitis. Las gingivitis incluyen procesos que afectan la encía; es una inflamación de los

tejidos blandos que rodean al diente sin extenderse al cemento el ligamento periodontal y el hueso alveolar. Las periodontitis son procesos que comprometen todas las estructuras del periodonto y son una familia de patologías que difieren en su etiología, historia natural, progresión y respuesta al tratamiento. ⁽⁹⁾

Las enfermedades periodontales son infecciones crónicas serias que conllevan destrucción del aparato de soporte del diente, incluyendo la encía, el ligamento periodontal, y el hueso alveolar. Estas enfermedades se inician con una acumulación local de bacterias sobre el diente. Las enfermedades periodontales, incluyendo la gingivitis y la periodontitis, pueden afectar uno o varios dientes, y si no se tratan, pueden causar la pérdida de los mismos, particularmente en adultos. Esta es la patología odontológica más común en adultos, como también una de las enfermedades inflamatorias crónicas más comunes que afectan gran mayoría de la población en el mundo. Aunque la biopelícula es esencial para el inicio de las enfermedades periodontales, la mayoría de los procesos destructivos asociados con estas enfermedades se debe a una respuesta excesiva del huésped al reto bacteriano. Por lo tanto, la enfermedad periodontal es una enfermedad multifactorial, y compleja. ⁽¹⁰⁾

2.2.1.1 EPIDEMIOLOGIA DE LAS ENFERMEDADES PERIODONTALES:

La incidencia de las enfermedades infecciosas y su consecuente costo en vidas y recursos económicos en las últimas décadas ha hecho que su prevención sea una de las principales preocupaciones de las entidades encargadas de atención en salud a nivel nacional. Como todas las ciencias médicas, la odontología sabe que su mejor arma es la prevención.

La condición de Salud Bucal en el Perú, atraviesa una situación crítica debido a la alta prevalencia de enfermedades Odonto estomatológicas, tenemos así que la prevalencia de caries dental es de 90%, enfermedad periodontal 85% y mal oclusión 80%, constituyendo un problema de salud pública. ⁽¹¹⁾

2.2.1.2 ETIOLOGIA DE LAS ENFERMEDADES PERIODONTALES:

Hoy en día no se discute que el agente etiológico de la mayoría de las gingivitis y periodontitis es la placa bacteriana (Biopelícula) y los mecanismos por medio de los cuales se ocasiona el daño de los tejidos, a este nivel han sido ampliamente estudiados.

Así, la producción de enzimas proteolíticas por las bacterias de la Biopelícula puede llegar a producir daño directo al tejido, mientras la activación indirecta del sistema inmune ante la infección parece ser en mayor nivel, la responsable del extenso daño que puede ser observado en este tipo de enfermedades. ⁽¹²⁾

Las enfermedades periodontales son infecciones causadas por microorganismos que colonizan la superficie dentaria en el margen o por debajo de él. Se estima que cerca de 700 especies diferentes son capaces de colonizar la boca y cualquier individuo por lo general alberga 150 especies diferentes o más. En una boca sana los recuentos en los sitios subgingivales oscilan entre 10^3 en surcos poco profundos y mayor a 10^8 en bolsas periodontales profundas. Las cifras correspondientes a la placa supra gingival pueden ser mayores a 10^9 en la superficie de un

solo diente. En consecuencia, si bien cientos de millones o hasta miles de millones de bacterias continúan colonizando los dientes en el margen gingival o por debajo de él durante toda la vida, en la mayor parte de los sitios periodontales y en la mayoría de los individuos no se percibe una pérdida nueva de estructuras de sostén de los dientes en ningún momento. Este reconocimiento es crítico. Las relaciones ecológicas entre la flora microbiana periodontal y su huésped son, en términos generales benignas, puesto que no es frecuente el daño de las estructuras de sostén dentario. En ocasiones un subgrupo de especies bacterianas se introduce, prolifera en exceso o adquiere nuevas propiedades que originan la destrucción del periodonto. El desequilibrio resultante suele corregirse espontáneamente o con la aplicación de medidas terapéuticas. En cualquiera de los casos, las especies microbianas continúan colonizando por encima o por debajo del margen gingival, seguramente en un nuevo y “apacible” equilibrio. ⁽¹³⁾

2.2.1.3 MICROBIOLOGIA DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL:

Los biofilms que colonizan la cavidad oral son unos de los más complejos que existen en la naturaleza. Esta complejidad se debe en gran medida a la composición de las distintas superficies, que determinan la existencia de cuatro nichos orales diferentes: mucosa masticatoria, dorso lingual, saliva y superficies duras, en donde se incluyen las superficies dentarias y las de materiales de restauración. ⁽¹⁴⁾

A. película adquirida:

La película adquirida salival, o simplemente película adquirida (PA), es una delgada membrana biológica que se deposita en la superficie de los elementos dentarios, como resultado de la adsorción de proteínas y glucoproteínas contenidas en la saliva y el líquido crevicular, así como también otras provenientes de productos microbianos y celulares. La adsorción de dichas biomoléculas no ocurre exclusivamente sobre tejido adamantino, sino que existe PA en todas las superficies bucales (cemento, mucosas, epitelio bucal queratinizado y no queratinizado), aparatos protésicos y restauraciones, cada una de ellas de composición química diferente. ⁽¹⁵⁾

La retención de biomoléculas por parte del esmalte dentario es un fenómeno muy rápido de naturaleza selectiva, por lo cual se adsorben determinadas proteínas y glucoproteínas procedentes de los fluidos bucales. ⁽¹⁶⁾

La PA es una membrana de composición química muy compleja y heterogénea. Mediante procedimientos químicos e inmunológicos se ha demostrado la presencia de proteínas, glúcidos y lípidos; los dos primeros, al menos en parte, se encuentran combinados bajo la forma de glucoproteínas. La composición del integumento condiciona la colonización bacteriana, por cuanto algunas biomoléculas o sus residuos actúan como receptores que posibilitan la adherencia de gérmenes bucales. ⁽¹⁷⁾

La composición de la película no permanece constante en todos los estadios de su formación. El integumento formado en un primer momento se modifica merced al

procesamiento que llevan a cabo las enzimas contenidas en la saliva provenientes de las bacterias, de las células epiteliales descamadas y de leucocitos polimorfonucleares neutrófilos que ingresan a la cavidad bucal transportados por el líquido gingival. De esta manera, diversos componentes salivales adsorbidos en un primer momento a la HAp son rápidamente degradados, razón por la que no aparecen en el integumento que ha madurado por algún tiempo. Por ello, la composición de la "película natural" es significativamente distinta de la película formada in vitro. Las proteínas más susceptibles de degradación enzimática son algunas proteínas ricas en prolina, estaterinas e histatinas, mientras que las cistatinas, -amilasa y otras proteínas ricas en prolina son más resistentes y persisten en la PA. ⁽¹⁸⁾

B. Mecanismo de formación de la PA:

La formación de la película adquirida sobre la superficie del diente es la etapa inicial en la formación de la placa dental. Sobre la superficie del esmalte comienza a depositarse una película delgada amorfa que oscila entre 0,1 y 1,0 micrómetros de espesor, llamada película adquirida, compuesta por proteínas y glucoproteínas aniónicas unidas a la hidroxiapatita del esmalte. ⁽¹⁵⁾⁽¹⁹⁾

La película formada opera como barrera de protección proporcionando lubricación a las superficies e impidiendo la desecación del tejido. Además, posee moléculas que funcionan como sitios de unión para la adherencia de microorganismos y enzimas de origen salival, como lizosimas, amilasas y peroxidasas, que favorecen la colonización bacteriana sobre la superficie de la película.

La formación de la PA se inicia con la adherencia de productos orgánicos e inorgánicos de algunas bacterias., especialmente cocos gram positivos, a una matriz de polisacáridos. Sobre esta capa inicial de microorganismos asociados a la película, estacionaria, hay una cubierta de aspecto irregular “líquida” que permite el movimiento de fluidos al interior de la masa. A medida que progresa la formación de la Biopelícula, se van creando gradientes de difusión para el oxígeno, así como una disminución del potencial oxido reducción hacia las capas más profundas, lo que determina la naturaleza anaeróbica de los microorganismos que permanecerían ubicados ahí. Las bacterias producen polímeros extracelulares y dentro del biofilm hacen cada vez más lento su metabolismo y división celular provocando que la placa resista la acción de sustancias externas, incluyendo los antimicrobianos, razón por la cual el tratamiento de elección para las enfermedades periodontales sigue siendo la remoción mecánica de los depósitos de placa. ⁽²⁰⁾

En la formación de la PA están involucradas fuerzas de atracción de distinta naturaleza entre las superficies dentales y las biomoléculas dispersas en los líquidos que las rodean. Dado que los cristales de HAp poseen carga negativa superficial, para su neutralización son atraídas cantidades equivalentes de calcio iónico provenientes de saliva. Como las proteínas contienen grupos aniónicos, se establecen uniones electrostáticas con el calcio y de esta manera quedan adsorbidas a la HAp. Por su parte, las proteínas catiónicas interactúan directamente con los grupos fosfato de la HAp a través de enlaces iónicos. Luego de estas uniones iniciales ocurren otras

interacciones entre las biomoléculas retenidas y la HAp que contribuyen a reforzar la adherencia de la PA. A través de reacciones catalizadas por enzimas provenientes de la saliva, bacterias, células epiteliales y leucocitos polimorfonucleares, la PA va modificando su composición hasta alcanzar el estado de madurez. ⁽²¹⁾

Existen indicios señalando que la formación de película ocurre en dos etapas. En la etapa inicial, que dura hasta los 30 minutos, la cubierta proteica aumenta tres veces su espesor. Al comienzo es una discreta película orgánica depositada sobre el esmalte que evoluciona hacia una morfología predominantemente globular, lo cual se explica por el hecho de que las proteínas que se agregan lo hacen como micelas. Tales partículas corresponden principalmente a proteínas ricas en prolina que existen como tales en la saliva, similares a las micelas de la caseína láctea. En contacto con las superficies dentarias, estos glóbulos se fusionan formando largas unidades que cubren por entero el esmalte. Al completarse esta etapa, la película consiste en una multicapa globular constituida por micelas que tienen un diámetro de 20 a 300 nm dispuestas en forma de racimos. Los iones calcio mantienen la integridad de la estructura multiglobular, dado que la superficie de los glóbulos presenta una alta densidad de cargas negativas, se produce la unión con dicho catión, facilitando de tal modo la cohesión de las micelas. Merced a su estructura globular, la película inhibe la precipitación de calcio y fosfato, pese a que la saliva se encuentra sobresaturada en estos iones. En la segunda etapa, por acción de enzimas proteolíticas propias de la saliva o provenientes de bacterias se altera la conformación

molecular de la película, con la consiguiente pérdida de la estructura globular y de la capacidad de formar dispersiones acuosas. La primera etapa es cuantitativamente la más importante, en tanto la segunda, correspondiente al estadio de maduración del integumento, tiene importancia funcional por cuanto permite la colonización bacteriana.

El depósito de película adquirida se completa entre los 60 y 120 minutos siguientes a la exposición de las superficies dentarias al ambiente bucal, aunque investigaciones más recientes indicarían que el máximo desarrollo se alcanza entre los 30 y los 60 minutos. ⁽²²⁾

La colonización primaria está dominada por cocos Gram positivos anaerobios facultativos. Estos se adsorben sobre las superficies cubiertas por la película poco tiempo después de la limpieza mecánica. La placa recolectada a las 24 horas está compuesta principalmente por Streptococcus, S. sanguis es el más destacado. En la fase siguiente, los bacilos Gram positivos presentes al principio en muy bajo número aumentan gradualmente y en ocasiones superan a los Streptococcus. Los filamentos Gram positivos sobre todo especies de Actinomyces predominan en esta etapa de formación de la placa.

Los receptores de superficie de los cocos y los bacilos Gram positivos depositados permiten la adherencia ulterior de los microorganismos gramnegativos con menor capacidad de adherencia directa a la película. De esta forma se adhieren Veillonella, las fusobacterias y otras bacterias Gram negativas anaerobias. Por eso la heterogeneidad de la placa aumenta gradualmente y con el

tiempo incluye grandes cantidades de microorganismos Gram negativos. El resultado de esta evolución es un conjunto complejo de especies bacterianas interrelacionadas.

Después de la multiplicación activa de los microorganismos colonizadores primarios, se incorporan otras especies microbianas dando lugar a las llamadas “colonización secundaria” y “colonización terciaria”. A medida que la placa aumenta de grosor, las zonas más profundas de la misma evidencian un déficit de oxígeno, por lo que las bacterias aerobias van desapareciendo de esta zona y se añaden otras con un potencial de óxido reducción más bajo.

Hay una serie de microorganismos secundarios que se adhieren a las bacterias de la placa. Son los siguientes: *Prevotella loescheii*, *Prevotella intermedia*, *Capnocytophaga* sp., *Fusobacterium nucleatum* y *Porphyromonas gingivalis*.⁽⁸⁾⁽²³⁾

Socransky y cols. estudiaron más de 13.000 muestras de placas subgingivales de un total de 185 individuos adultos y utilizaron técnicas de análisis de grupo y de ordenación de comunidad para demostrar la presencia de grupos microbianos específicos en la placa dental. Se reconocieron seis grupos estrechamente asociados de especies de bacterias, entre las que se incluyeron *Actinomyces*, un complejo amarillo que consta de miembros del género *Streptococcus*, un complejo verde compuesto por especies de *Capnocytophaga*, *Actinobacillus actinomycetem comitans* serotipo a, *Eikenella corrodens*, *Campylobacter concisus* y un

complejo púrpura consistente en *Veillonella parvula* y *Actinomyces odontolyticus*. Estos grupos de especies son colonizadores tempranos de la superficie del diente. Su crecimiento habitualmente precede a la multiplicación de los complejos naranja y rojo gramnegativos predominantes.⁽¹⁰⁾⁽²⁴⁾

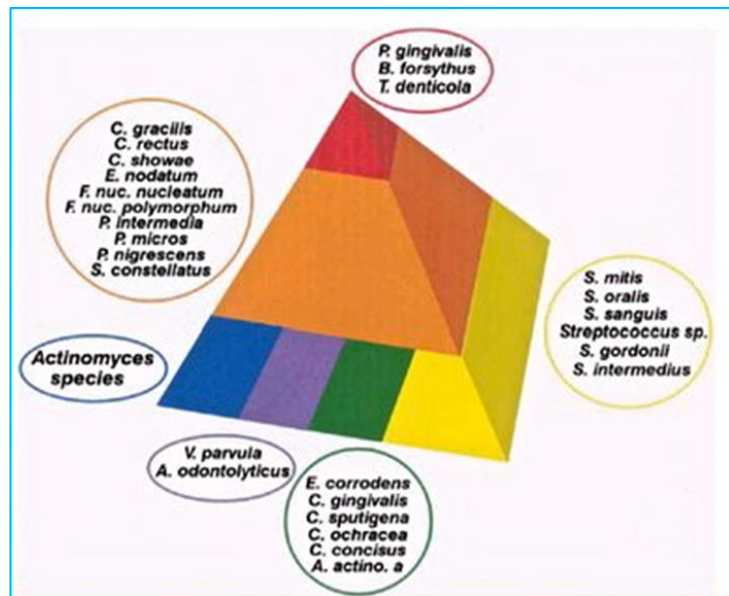


IMAGEN N°1: Diagrama de la asociación entre especies subgingivales (adaptado de Socransky y cols.. Los datos proceden de 13.321 muestras de placas subgingivales tomadas de la cara mesial de cada diente en 185 adultos.

2.2.2 PORPHYROMONAS GINGIVALIS:

2.2.2.1 Descripción:

Porphyromonas gingivalis es un coco-bacilo Gram negativo, anaerobio estricto que mide de 0.5-0.8 um x 1-3um, no móvil, asacrolítico, con actividad proteolítica.

Pertenece al complejo rojo de acuerdo al modelo de colonizadores de la placa bacteriana propuesto por Socransky y Hafajee considerándose como uno de los principales colonizadores tardíos y está relacionado con el inicio y progresión de la enfermedad periodontal crónica y agresiva, aunque también puede ser aislado de pacientes sanos con más baja prevalencia. La saliva funciona como un factor importante para la colonización de este microorganismo ya que la película adquirida de ésta proporciona puntos de anclaje para las fimbrias lo cual permite su adhesión a las superficies sólidas de la cavidad oral.⁽²⁵⁾

2.2.2.2 Taxonomía:

El género Bacteroides, agrupó en su primera clasificación, un conjunto de bacterias heterogéneas, con características de ser anaerobios obligados, gram negativos, no esporulados y de forma bacilar, con la aplicación de nuevas técnicas de identificación a base de biología molecular, como el ADN-ADN hibridación, y estudio de sus características bioquímicas, se pudo identificar un grupo homogéneo de especies a partir de los bacteroides, llamados ahora Porphyromonas, que en sus inicios estuvo formando por 3 especies, *P. gingivalis*, *P. asaccharolyticus* y *P. endodontales*. Estas especies presentaban la característica de ser no fermentadores, utilizar como sustrato el nitrógeno y obtener su energía a partir de tripticasa y peptona.⁽²⁶⁾

2.2.2.3 Nutrición:

Porphyromonas gingivalis es una especie proteolítica, asacarolítica, anaerobia estricta, por lo que coloniza sitios en donde la tensión de oxígeno es baja, pero en los cuales hay substratos abundantes en nitrógeno. El ecosistema subgingival proporciona un medioambiente ideal para esta especie, ya que, el potencial redox es bajo (y más bajo aún en sacos periodontales), y posee nutrientes endógenos ricos en péptidos y aminoácidos.

P. gingivalis tiene un requerimiento obligado de hierro para crecer. Sin embargo, cuando ocurre una falta de hierro en el sistema de poros de la bacteria (sideporos, los cuales quelan hemina) utiliza hemina (hierro protoporfirina IX). Los niveles de hemina en boca son variables y el sangramiento, como resultado de la inflamación gingival, elevaría su concentración subgingival, de modo que éste puede ser un factor que predispone a la acumulación de esta bacteria. La hemina que se acumula en la membrana extracelular actúa como "basurero" de oxígeno ayudando a mantener un microambiente anaerobio ⁽²⁷⁾

2.2.2.4 Factores de virulencia:

Estructuras o moléculas que ayudan al establecimiento y mantenimiento de las especies bacterianas dentro de los tejidos del huésped y también pueden funcionar como ayudantes en el establecimiento de relaciones simbióticas entre la bacteria y el mismo entre especies bacterianas.

Para que estos factores comiencen a ejercer su acción, las bacterias primero deben encontrar un nicho ecológico

apropiado o sitio de actividad, establecerse y comenzar a crecer y multiplicarse.

Las bacterias son capaces de invadir un huésped susceptible a través de la penetración de barreras y membranas celulares para luego asociarse con células como por ejemplo las epiteliales o los fibroblastos. La adherencia de las bacterias a los tejidos o a otras especies bacterianas residentes en el huésped es esencial para la colonización y patogenicidad.

A. Fimbrias:

Son finos y numerosos apéndices que sobresalen de la membrana celular, cuya función principal es la adhesión a tejidos periodontales, endoteliales, y otros tejidos, ya que se ha aislado de abscesos de ovario y de pulmón e incluso se ha encontrado que las fimbrias de *P. gingivalis* median la coagregación con *Streptococcus oralis* a través de moléculas, residuos o dominios específicos.

Las fimbrias mayores inducen en macrófagos y neutrófilos periféricos humanos la sobreproducción de citoquinas pro-inflamatorias como IL-1, IL-6 y TNF-alfa, a través de la interacción con receptores para PAMPs. Estas citoquinas actúan como intermediarios en los tejidos periodontales de tal forma que contribuyen con la formación de la lesión inflamatoria, la cual puede conllevar a la activación de la destrucción del tejido óseo y de los tejidos periodontales.⁽²⁸⁾

Por lo tanto las fimbrias, además de considerarse como un factor de virulencia importante en la colonización e invasión de *P. gingivalis* en tejidos orales, también

puede colaborar con la respuesta inflamatoria dependiente de la respuesta inmune al estimular la secreción de las citoquinas antes mencionadas.

B. Proteínas de membrana externa

Los estudios en los cuales han separado la membrana externa de la bacteria han permitido diferenciar 20 tipos de proteínas presentes en la bacteria. Una proteína de 24 kDa fue observada y se encontró que actúa como un factor de activación de fibroblastos y generó resorción ósea. Se encontró también una proteína de 75 kDa siempre asociada a la estructura de las fimbrias, su papel aún no está claro pero en estudios se observó que actúa como un activador policlonal de células B y productor de IL- 1 en macrófagos de peritoneo de ratones. Una proteína 40 kDa se ha estudiado como un importante receptor de membrana externa para la coagregación de *Porphyromonas gingivalis* con *Actinomyces viscosus*, la cual es clave para los procesos iniciales de formación de la Biopelícula subgingival.

C. Lipopolisacáridos:

El Lipopolisacárido es el principal componente de la membrana externa de los Gram (-) que facilita su interacción con el ambiente externo, y éste tiene un gran potencial de causar una respuesta inflamatoria en el tejido periodontal del huésped. El Lipopolisacárido está compuesto de tres regiones: una hidrofóbica, denominada Lípido A, un core o núcleo oligosacárido y el polisacárido o antígeno O.

P. gingivalis sintetiza 2 Lipopolisacáridos (LPS): O-LPS (compuesto de unidades repetidas de tetra sacárido modificado por fosfoetanolamina) y A-LPS

(polisacárido aniónico compuesto por mannanfosforilado), ésta macromolécula es requerida para el mantenimiento de la integridad de la bacteria y la resistencia en suero.

En general el Lipopolisacárido de *P. gingivalis* induce respuesta inmune pro-inflamatoria al estimular células mieloides y linfoides. Sin embargo la heterogeneidad en su estructura induce respuesta inmune opuesta que puede conllevar a disregulación inmunológica, lo cual es una característica de la periodontitis crónica.

D. Cápsula:

Descrito por varios investigadores como un factor de virulencia antifagocítico, compuesto generalmente por polisacáridos. Se conoce que son varios compuestos de azúcar que varían en los extendidos que se han estudiado al microscopio electrónico.

E. Proteasas de Cisteína: Lisina y arginina gingipaínas:

Las gingipaínas son proteasas de cisteína que se pueden clasificar en Lisina - gingipaínas (Kgp) o arginina – gingipaínas.

Las gingipaínas están implicadas en la patogénesis de la periodontitis, pues tienen la capacidad de degradar proteínas del huésped para ser usadas por la bacteria para su crecimiento y metabolismo, alterando la integridad celular y la función, actuando directamente en la destrucción del tejido. Las arginina -gingipaínas y lisina - gingipaínas hidrolizan específicamente los enlaces peptídicos con residuos de arginina y de lisina respectivamente. Estas enzimas también ayudan a la adhesión de la bacteria. Son indispensables para la

expresión de las fimbrias a través del procesamiento de fimbriolina inmadura.

F. Proteasas de inmunoglobulinas: IgA1, IgA2, e IgG Proteasas.

Estas proteasas tienen la capacidad de degradar IgG e IgA en pequeños fragmentos, lo cual estimula el crecimiento de la bacteria *in vitro*, puesto que inhibe anticuerpos no específicos y específicos anti *P. gingivalis*. Grenier et al, demostraron que una vez unido el anticuerpo anti *P. Gingivalis* a la membrana celular, la bacteria lo hidroliza en pequeños fragmentos. Gracias a esto *Porphyromona Gingivalis* podría ser capaz de reducir la concentración del anticuerpo Ig G en fluido gingival del surco, lo cual da como resultado el crecimiento de este miembro importante de la microbiota periodontopática.

G. Ácidos Grasos de Cadena Corta:

P. gingivalis produce una gran variedad de ácidos grasos de cadena corta que se han encontrado en concentraciones mili molar en el fluido crevicular y tiene un profundo efecto en las células del huésped. El Ácido Butírico induce apoptosis de Linfocitos B, Linfocitos T, keratinocitos y fibroblastos. Este ácido actúa generando acetilación de las histonas y alterando la expresión genética en las células del huésped.

Son importantes en la infección por *P. gingivalis* pues ayudan a la destrucción de tejidos. Los ácidos grasos de cadena corta potencian la acción pro-inflamatoria del Lipopolisacárido, estimulando la producción de IL-1 α y TNF- α .

H. DNA:

El DNA bacteriano estimula las células inmunes por activación de TLR-9. A través de ésta vía puede estimular la secreción de altas cantidades de IL-12 y puede actuar sinérgicamente con otros factores como el Lipopolisacárido para estimular otros TLR, e inducir la secreción de citoquinas. El DNA de *P. gingivalis* también estimula la secreción de IL-6 por fibroblastos humanos activando el factor nuclear Kappa- α .⁽²⁹⁾

I. Proteasas de Tripsina:

P. gingivalis, es una bacteria asacarolítica, por no depender del azúcar requiere degradar proteínas del huésped para obtener energía. Una proteasa semejante a la tripsina desdobra grandes proteínas en pequeños péptidos que proveen importantes mecanismos de crecimiento y multiplicación dentro del huésped.

Tiene predilección por hidrolizar proteínas que poseen en residuos de Arginina terminales ligados a un cromóforo, tales como benzoyl-arginina-2-naphthylamida (BANA) o benzoyl-arginina-p-nitroanilida (BAPNA).

Estas proteasas se encuentran principalmente en la membrana interna. Las bacterias que tienen proteasas semejantes a tripsina son *P. gingivalis*, *Treponema denticola* y *Tanerella forsythia*.

J. Hemolisina:

Cabe destacar también que *P. gingivalis* requiere moléculas de hierro como la hemina para su crecimiento, y tiene gran habilidad para partir proteínas grandes (la transferrina y la hemoglobina) para proveer un mecanismo por el cual el *P. gingivalis* asegura su

hierro esencial. La Hemolisina es una proteína que capta el hierro y es capaz de generar lisis de glóbulos rojos en el laboratorio, in vivo genera lisis de estas células en los confines de la bolsa periodontal, se encontraron 2 tipos de hemolisinas 48 kDa y 18 kDa. Las vesículas de membrana externa inactivan completamente la actividad bactericida del suero humano, esta inhibición también fue observada en el polisacárido, por lo tanto se cree que es una función compartida.

K. Colagenasas:

Las colagenasas se encuentran en la pared celular y son secretadas al medio extracelular, donde tienen a capacidad de hidrolizar el colágeno generando una ruptura en la triple hélice. Estas proteasas tienen actividad contra colágeno tipo I y tipo IV. El gen prt C ha sido aislado de *P. Gingivalis*, y codifica para una proteína con actividad colagenolítica con un peso molecular de 35 Kda.

L. Hemaglutininas:

Proteínas ubicadas en la membrana externa que inducen aglutinación de eritrocitos, debido a que la bacteria requiere el hemo para utilizarlo para su crecimiento dentro del huésped. (HA-Ag2).

2.2.2.5 Fisiopatología

P. gingivalis es considerado un colonizador secundario, comensal del surco gingival, que llega por contagio o transmisión por individuos infectados, por medio de la saliva principalmente. Su capacidad de adherirse principalmente por sus fimbrias tipo Ib, II así como por sus vesículas de membrana, hemaglutininas, cápsula, le

permiten dar el primer paso en la colonización del surco, poder adaptarse e invadir las células epiteliales en un periodo aproximado de 20 minutos, pudiendo replicarse dentro de ellas y diseminarse a las células de alrededor. Esta característica de invadir la célula, le da la capacidad de evadir las defensas del huésped. Así también su capacidad de degradar diversas proteínas, componentes del surco gingival, ligamento periodontal y hueso alveolar, además de alterar la respuesta innata y específica del anfitrión. A todo esto se suma un factor huésped, que ante la presencia de esta bacteria, activa una diversidad de respuestas que pueden incrementar el proceso inflamatorio, presente en el surco, haciendo crónico el proceso de destrucción del periodonto. ⁽²⁹⁾

2.2.3 CONTROL QUIMICO DE LA PLACA DENTAL COMO TERAPIA COADYUVANTE:

El control de placa bacteriana es el método principal en la prevención de las enfermedades periodontales. Cada vez está más extendido el denominado control químico de la placa de manera complementaria a un control mecánico ineficaz. Los fármacos más utilizados a tal fin son los antisépticos bucodentales. ⁽³⁰⁾

La limpieza mecánica de los dientes con cepillado dental y pasta dentífrica se acepta como la forma de higiene bucal más común y potencialmente eficaz. Lamentablemente, es un hecho que una proporción significativa de las personas no logre practicar el control de la placa con estándares suficientemente altos, por lo cual la gingivitis y periodontitis tienen una prevalencia elevada desde temprana edad.

Un creciente interés en el tratamiento antimicrobiano como adjunto a la terapia periodontal ha surgido posterior a 1970 debido a la asociación de

ciertas especies bacterianas frecuentemente encontradas en procesos periodontales.

Las sustancias químicas actúan sobre la placa cuantitativa y cualitativamente por los siguientes medios:

- Evitando la adherencia bacteriana, con agentes antiadhesivos. Las sustancias antiputrefacción o los hipocloritos son antiadhesivos, pero son tóxicos en el medio oral, no hay compuestos hoy en día con estas características.
- Deteniendo o retrasando la proliferación bacteriana con antimicrobianos.
- Eliminando la placa establecida con lo que a veces es llamado el “cepillo dental químico”.
- Alterando la formación de la placa. Esto no se ha intentado dado la incompleta comprensión de la etiología bacteriana de la gingivitis.

Los agentes inhibitorios más eficaces son aquellos cuya acción persiste en la boca durante el mayor tiempo posible. La persistencia de la acción o sustentividad depende de varios factores:

- Retención prolongada por adsorción en las superficies bucales, incluidos los dientes cubiertos por película.
- Conservación de la actividad antimicrobiana una vez adsorbidos.
- Neutralización mínima o lenta de la actividad antimicrobiana en el medio bucal o lenta desaparición de las superficies. ⁽³¹⁾

2.2.3.1 Compuestos de Amonio cuaternario: Cloruro de Cetilpiridinio:

El cloruro de Cetilpiridinio es el representante de esta clase de compuestos. Es el ingrediente más común encontrado en los enjuagues bucales, generalmente en una concentración de 0,05% y ha sido demostrada su efectividad en la eliminación de un amplio espectro de bacterias: 35%.

El cloruro de Cetilpiridinio (CPC) es un compuesto monocatiónico. El CPC es un compuesto cuaternario del nitrógeno cloruro de 1-hexa-decilpiridinio con actividad antimicrobiana frente a muchos microorganismos, incluidos virus. Sus propiedades físicas y químicas están bien descritas (United States Pharmacopeial Convention, Inc., 1995)

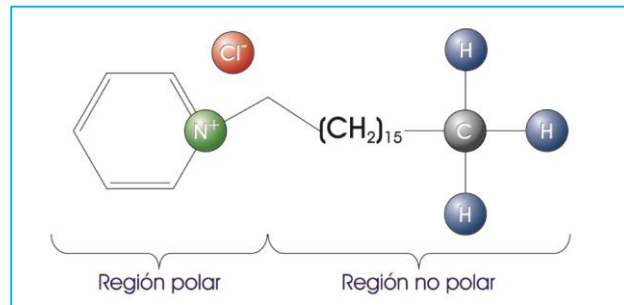


IMAGEN N°2: Composición Química del Cloruro de Cetilpiridinio

Está clasificado como un agente catiónico y contiene un radical cetil substituido por un átomo de hidrogeno en posición 1. El ácido clorhídrico forma una sal clorada. El radical cetilo proporciona una zona lipofílica a la molécula, contribuyendo al balance hidrofílico/lipofílico que es necesario para su actividad antimicrobiana. La actividad antimicrobiana depende de la posición de la carga molecular respecto de las bacterias que tienen una carga negativa. Esta colocación permite a la porción hidrofílica del CPC interactuar con la membrana de la célula, resultando en una pérdida de componentes celulares, una disrupción del metabolismo celular, una inhibición del crecimiento celular, y muerte de la célula (Scheie, 1989; Merianos, 1991; Smith y col., 1991). Debido a que la región hidrofílica cargada positivamente es crítica en su actividad antimicrobiana, cualquier formulación que disminuye la actividad del grupo catiónico o que compromete a este grupo puede inactivar el producto. Así, es esencial establecer qué productos con

CPC son suficientemente activos biológicamente para justificar su efecto inhibidor de la placa. ⁽³²⁾

A. Estudios microbiológicos y clínicos:

El cloruro de Cetilpiridinio tiene la capacidad de interactuar con la membrana celular bacteriana y afectar su permeabilidad con la subsiguiente pérdida de los constituyentes celulares. Tiene actividad bactericida sobre bacterias Gram positivas y Gram negativas y no parece producir alteraciones significativas en la microbiota bucal, principalmente las que se relacionan con el crecimiento de especies oportunistas como *Cándida Sp.*

B. Efectividad y sustentividad:

Se absorbe en la boca por un tiempo mayor que la Clorhexidina. El Cloruro de Cetilpiridinio posee una sustentividad de alrededor de tres horas ya que pierde actividad una vez absorbido o por su rápida desorción. Estos menores efectos pueden deberse a su menor retención una vez absorbido y a su neutralización en el medio bucal. Diversos estudios han mostrado su efectividad anti placa.

El CPC se usa en una amplia gama de colutorios bucales antisépticos, habitualmente, en una concentración de 0,05%. En el pH bucal, estos antisépticos son monocatiónicos, se absorben rápidamente y cuantitativamente, en mayor medida que la Clorhexidina a las superficies bucales. Pero la sustentividad del CPC es de unas 3 horas, debido a su pérdida de actividad una vez absorbido o a su rápida eliminación.

Los enjuagues bucales con cloruro de Cetilpiridinio se utilizan en Estados Unidos desde 1940, lo que es significativo con respecto a la seguridad del ingrediente.

C. Ventajas y desventajas:

- Ventaja: efecto anti placa
- Desventajas: menor sustentividad que la Clorhexidina, tinciones, sensación de quemazón, descamaciones.⁽³³⁾

2.2.3.2 Clorhexidina:

Es el representante más característico de las biguanidas. Constituye uno de los tres antisépticos quirúrgicos más importantes y es el antiséptico bucal que más se usa. Esto es debido en particular a su eficacia y amplio espectro de actividad.

La Clorhexidina se desarrolla en la década de los 40 por Imperial Chemical Industries en Inglaterra por científicos en un estudio contra la malaria, aunque nunca fue utilizada con este fin. En ese momento los investigadores fueron capaces de desarrollar un grupo de compuestos denominados polibiguanidas que demostraron tener un amplio espectro antibacteriano y salió al mercado en 1954 como antiséptico para las heridas de la piel. Posteriormente comenzó a utilizarse en medicina y cirugía tanto para el paciente como para el cirujano. En odontología empezó a utilizarse para desinfección de la boca y en endodoncia. El estudio definitivo que introdujo la Clorhexidina en el mundo de la periodoncia, fue el realizado por Løe y Schiott en 1970 donde se demostró que un enjuague de 60 segundos dos veces al día con una solución de gluconato de clorhexidina al 0.2% en ausencia de cepillado normal, inhibía la formación de placa y el desarrollo de gingivitis.⁽³⁴⁾

A. Estructura química:

La Clorhexidina es una molécula bicatiónica simétrica, es un dímero proguanil por lo que decimos que es una biguanida, la cual está conectada por una cadena central hexametileno. En cada extremo se enlaza un radical paraclorofenil (2 anillos 4

clorofenil), resultando su nombre completo: paraclorofenilbiguanida.

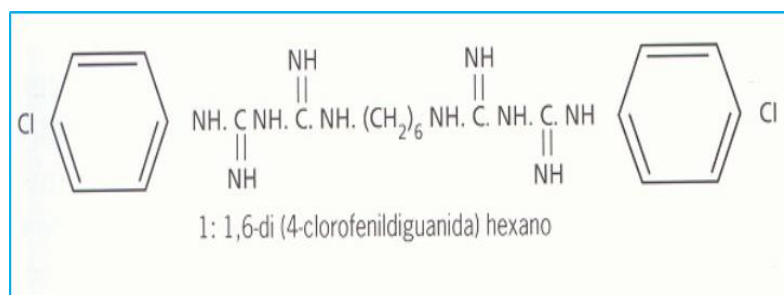


IMAGEN N°3: Composición química de la Clorhexidina

Este compuesto es una base fuerte dicatiónica a Ph superior a 3.5 con dos cargas positivas en cada extremo del puente hexametileno. Es esta naturaleza dicatiónica la que lo hace extremadamente interactiva con los aniones, lo que es relevante para su eficacia, seguridad, efectos secundarios colaterales y su dificultad para formularla en productos. Aunque es una base, la Clorhexidina se mantiene más estable en su forma de sal y la preparación más común es la sal de digluconato por su alta solubilidad en agua.

B. Mecanismo de acción:

Clorhexidina se une fuertemente a la membrana celular bacteriana, lo que a bajas concentraciones produce un aumento de la permeabilidad con filtración de los componentes intracelulares incluido el potasio (efecto bacteriostático). En concentraciones más altas produce la precipitación del citoplasma bacteriano y muerte celular (efecto bactericida).

En boca se adsorbe rápidamente a las superficies de contacto, incluidos los dientes con película adquirida, proteínas salivales y a la hidroxiapatita. Los depósitos de Clorhexidina se forman por la interacción reversible de la molécula de Clorhexidina

con grupos fosfato, sulfato y carboxilo de los tejidos blandos y duros.

La Clorhexidina absorbida se libera gradualmente en 8-12 horas en su forma activa. Después de 24 horas aún pueden recuperarse concentraciones bajas de Clorhexidina, lo que evita la colonización bacteriana durante ese tiempo. Su pH óptimo se encuentra entre 5.5 y 7.0. En función del pH ejerce su acción frente a diferentes bacterias. Con un pH entre 5.0 y 8.0, es activa frente a bacterias Gram+ y Gram- .

Los estreptococos orales transportan azúcares a través del sistema fosfoenolpiruvato fosfotransferasa. La Clorhexidina incluso en baja concentración, inhibe este sistema. Esto podría explicar el hecho de que a bajas concentraciones, Clorhexidina puede reducir la producción de ácido a partir de glucosa por estreptococos orales sin afectar su viabilidad.

El efecto anti placa se produce a través de cuatro mecanismos:

- La Clorhexidina bloquea los grupos ácidos de libres de las glicoproteínas salivales (mucinas), las cuales forman la película adquirida que permitirá la formación de la placa bacteriana, siendo ésta su primera capa, no permitiendo la formación de la misma.
- La carga iónica positiva de la Clorhexidina atrae a la superficie microbiana de carga negativa, a lo que contribuye el pH del medio, el cual es neutro o básico, permitiendo que los microorganismos se unan a las moléculas de Clorhexidina y no se adhieran a la película adquirida. La Clorhexidina actúa sobre la membrana de los microorganismos produciendo cambios electroforéticos que actúan sobre las bacterias produciendo precipitación de iones potasio y fosfato. A

mayor concentración de Clorhexidina se produce una precipitación plasmática de los microorganismos, produciéndoles la muerte, lo que le confiere efecto bactericida.

- La Clorhexidina también destruye la placa formada al competir con el ión calcio, factor coadyuvante de la formación y crecimiento de la placa bacteriana que actúa como una molécula de enlace que permite a las bacterias fijarse a la película adquirida sin impedimentos. Cuando Clorhexidina se une al ión calcio, impide la unión del mismo a las bacterias.
- A altas concentraciones la Clorhexidina produce tras unirse a la pared bacteriana, cambios electroforéticos que producen una precipitación citoplasmática que conlleva la muerte celular. ⁽³³⁾⁽³⁵⁾

C. Estudios microbiológicos y clínicos.

Los estudios parecen indicar que la acción inhibitoria es únicamente debida a la Clorhexidina unida a la superficie de los dientes. Es posible que la molécula se adhiera a la superficie por un catión, dejando los otros libres para interactuar con las bacterias que intentan colonizar la superficie del diente. Esto explicaría por qué las pastas con una base de sustancias aniónicas como el lauril sulfato sódico reducen la inhibición de la placa por la clorhexidina si se usan poco después de los colutorios. ⁽³³⁾⁽³⁶⁾

D. Efectividad y sustantividad:

La Clorhexidina adsorbida se libera gradualmente en 8-12 horas en su forma activa. Después de 24 horas aún pueden recuperarse concentraciones bajas de Clorhexidina, lo que evita la colonización bacteriana durante ese tiempo. Su pH óptimo se encuentra entre 5,5 y 7. En función del pH ejerce su acción

frente a diferentes bacterias. Con un pH entre 5,0 y 8,0 es activa frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. El desarrollo de resistencias es muy escaso. También reduce los microorganismos aerobios y anaerobios de la placa en un 54-97 % en un periodo de seis meses. ⁽³⁷⁾

E. Ventajas y Desventajas:

- Acción bactericida rápida.
- Actividad residual duradera, entre 6 y 8 horas.
- Reducción rápida del número de bacterias de la piel.
- Efecto antiséptico prolongado.
- Amplio espectro de actividad.
- Activa en presencia de materia orgánica.
- Ayuda a prevenir la contaminación cruzada.

Su efecto adverso más común es la pigmentación marrón de los dientes, de algunos materiales de restauración y de las mucosas, sobre todo del dorso de la lengua. La causa por la que la Clorhexidina produce tinción no es del todo clara, existiendo distintas teorías al respecto. Lo que sí parece claro es que se produce una interacción entre la molécula que por un grupo catiónico está unida a la superficie del diente y por el otro grupo en vez de unirse a bacterias, se une a sustancias dietéticas ricas en taninos, produciéndose una pigmentación; así productos como el té, el vino tinto o el café potencian la pigmentación.

Se han descrito efectos adversos raros tales como dermatitis de contacto o de irritación de piel y mucosas, disgeusia, fotosensibilidad, urticaria, reacciones anafilácticas, ototoxocidad. ⁽³⁸⁾

F. Toxicidad

La seguridad de la Clorhexidina ha sido ampliamente documentada en la literatura (Clark 1991, Hennessey 1973, Greenstein 1982, Schiott 1970, Fardal 1986 y Løe 1976). Kenney en 1972 informa que una exposición de dos minutos a clorhexidina al 0.2%, puede producir alteración de la membrana celular en algunos polimorfonucleares.

Se han descrito también lesiones descamativas en la mucosa alveolar después de enjuagues con Clorhexidina al 0.2% (Flotra 1971). La descamación de células epiteliales puede suceder con alta concentración más frecuentemente que con baja.

La poca absorción de Clorhexidina es un factor en su baja toxicidad. Los experimentos con buches de Clorhexidina radiomarcada, indican que la penetración mucosa y gingival fue mínima y que la absorción gastrointestinal fue pequeña. El 90% del fármaco retenido fue excretado en las heces y el resto se eliminó en orina.

No obstante, se han descrito casos de reacciones adversas, tales como ototoxicidad tras efectuar irrigaciones en oído medio en cerdos de Guinea. Okano y cols en 1989 describen seis casos de pacientes en tratamiento con Clorhexidina que desarrollan serias reacciones de hipersensibilidad de tipo I, entre cuyos signos aparecieron urticaria, disnea, eritema local, fatiga, prurito y cianosis.

El digluconato de Clorhexidina fue confirmado como agente causal vía intradérmica en scratch y test epicutáneos. Sin embargo, los autores no mencionan la incidencia de aparición de estas reacciones. La recomendación referida es la de usar Clorhexidina a la menor concentración bactericida posible.

Cincuenta casos de reacciones adversas a digluconato de Clorhexidina fueron referidas al monitor de reacciones adversas

a medicamentos en Tokio desde marzo de 1967 a marzo de 1984. Los síntomas y signos en estos casos incluían hipotensión(22 casos), eritema(19 casos), disnea(13casos), urticaria(11 casos), prurito(9 casos), shock(9 casos), erupciones faciales(7casos), pitiriasis(5 casos), temblores (4 casos), cianosis(4 casos) y convulsiones un caso. Ningún caso de muerte fue registrado. Tampoco se confirman alergias en test cutáneos.

La frecuencia de estas reacciones no viene reflejada respecto al número de pacientes. La seguridad de la Clorhexidina en odontología, ha sido estudiada desde varias perspectivas. Greenstein y cols concluyen en 1986 que aplicaciones diarias de Clorhexidina durante más de dos años no produjo alteraciones en los niveles de hemoglobina, recuento de células rojas, análisis de orina, función renal, hallazgos clínicos ni actividad enzimática en los sujetos de estudio.

Johanson y cols en 1975 desarrollan un estudio durante dos años utilizando un dentífrico de Clorhexidina con dos aplicaciones diarias, sin presentarse efectos sistémicos observables ni cambios clínicos de la mucosa oral. ⁽³⁹⁾

G. Medios de presentación y formas comerciales.

La eficacia de Clorhexidina depende de su forma de presentación. Así encontramos colutorios, geles, barnices, dentífricos, irrigadores, etc.

- Colutorios

El método más utilizado es sin duda en colutorio para la mayoría de situaciones en las que estaría indicado el uso de la Clorhexidina como coadyuvante de la higiene oral.

Su forma de presentación más común es en solución al 0.12% para enjuagues de 15 ml durante 30 segundos y al 0.2% para enjuagues de 10 ml.

El colutorio presenta la ventaja de una cómoda aplicación frente al gel, sobretodo en el paciente pediátrico, reservando el gel para niños discapacitados como recomienda López y cols en 1997 tras un estudio clínico abierto en el control de la inflamación gingival comparando el gel frente al colutorio.

- **Dentífricos**

Desde hace unos años se ha incluido la Clorhexidina en dentífricos, lo que ha supuesto vencer el reto de la difícil formulación de Clorhexidina por su interacción con los surfactantes aniónicos y/ o sistemas abrasivos contenidos en muchos dentífricos fluorados (Yiuv 1993, Zampatti 1994, Yates y Jenkins 1993). Dado el gran número de presentaciones comerciales de Clorhexidina, la posible relación de la efectividad con la concentración, productos asociados, formulación galénica concreta, y coincidiendo con Báscones y cols (1994), las casas comerciales deben aportar al profesional ensayos clínicos controlados sobre las diferentes presentaciones y no sólo sobre el principio activo.

- **Geles**

En el estudio de López y cols. en 1997 comparan un gel y un colutorio de Clorhexidina tanto en el control de inflamación gingival como en la presentación de efectos secundarios por la utilización de los mismos. Se concluye que ambas presentaciones son efectivas en el control de inflamación gingival, aunque el gel es más efectivo en la reducción del índice gingival, siendo esto más significativo en los siete primeros días. Acerca del grado de confort y tolerabilidad, el grupo gel se mostró significativamente mayor que el grupo colutorio, por lo que a falta de otros estudios, se concluye que la obtención de mejores

resultados por gel, se deben a una mejor adherencia al diente y a la mucosa.

Lo anteriormente expuesto, justificaría su uso no sólo en el control de enfermedad periodontal sino también como antiséptico de acción localizada.

- **Barnices**

El barniz de Clorhexidina presenta una eficacia probada en la reducción de microorganismos como es el caso de los S. Mutans, además aplicando la Clorhexidina en barnices, reducimos efectos secundarios tales como alteraciones del gusto y el inherente sabor amargo de Clorhexidina, así como la ausencia de lesiones mucosas al ceñirse la aplicación a la superficie dentaria disminuyendo el contacto con superficies mucosas.

Según Pienihükkinen y cols (1995) el barniz de Clorhexidina es igual a tres aplicaciones de Clorhexidina en forma de gel. El inconveniente es que la aplicación del barniz debe ser llevada a cabo por el profesional lo que incrementa el número de visitas.

- **Aerosoles**

Es el vehículo de elección en pacientes discapacitados, físicos y psíquicos por la comodidad de aplicación por parte de familiares o cuidadores, ya que la utilización de colutorios en esta población, presenta el riesgo de ingesta el principio activo que pese a no ejercer efectos secundarios irreversibles, no deja de ser un riesgo potencial. Si la aplicación a esta población la realiza el profesional, el medio de elección es el barniz de Clorhexidina.

- **Chicles con Clorhexidina.**

Estudios recientes han demostrado su eficacia consiguiendo una reducción significativamente mayor de los índices de placa y gingivitis que los chicles placebo y similares resultados a dos enjuagues diarios con clorhexidina. Además los chicles presentan la ventaja de producir menor tinción en dientes y superficies orales.

- **Irrigaciones.**

Con irrigaciones pulsátiles al 0.06% sólo se obtienen resultados transitorios con la ventaja de ser agradable para el paciente. Ya se comprobó que la irrigación del surco con agua reducía el número de microorganismos. La adición de agentes antimicrobianos consigue mayor disminución del número de los mismos.

H. Concentraciones:

La Clorhexidina suele presentarse en dos concentraciones, al 0,12% y al 0,2%, se recomienda realizar un buche con 10ml de producto a una concentración del 0,2% y de 15ml al 0,12%, esto es debido a la dosis total de Clorhexidina ya que 10ml al 0,2 % libera 20mg y 15ml al 0,12% libera 18mg, observándose que los resultados con ambas formulaciones son igual de efectivos.

Según el estudio de Steenberghe y cols (2001) se consigue con una combinación de clorhexidina al 0,12% sin alcohol a la que se añade Cetilpiridinio al 0,05% (nueva formulación de Perio Aid), resultando igual de efectiva en el control de la formación de nueva placa que Clorhexidina con alcohol al 0,12% (Perio Aid) y que Clorhexidina con alcohol al 0,2%.

Conclusiones similares reflejan el estudio de Borrajo y cols (2002) en el que comparan dos formulaciones de Clorhexidina, una en medio alcohólico con digluconato de Clorhexidina al 0.12%, con fluoruro sódico al 0.05% y etanol al 11%, frente a una formulación idéntica sin alcohol. Los resultados indican la misma efectividad para ambas formulaciones en control de placa y reducción de la inflamación gingival.

Por otra parte, Segreto y cols. (1986) compararon la eficacia y tolerancia de Clorhexidina gluconato de 0,2% y 0,12% frente a placebo en un estudio a tres meses. Ambas formulaciones se utilizaron dos veces al día, durante 30 segundos y en volumen de 15 ml. La dosis diaria de Clorhexidina fue, pues, de 60mg. (0,2 % de Clorhexidina gluconato, dos veces al día) y 36 mg, (0,12 de Clorhexidina gluconato, dos veces al día).

Yévenes y cols (2002), según un estudio realizado en la facultad de odontología de Chile, al comparar concentraciones de clorhexidina de 0,1% frente a 0,12% concluyen que la clorhexidina al 0,1% es capaz de tener actividad anti placa y antimicrobiana cuando es usada en colutorios, no siendo necesarias concentraciones más elevadas, lo que disminuye el riesgo de aparición de efectos adversos.⁽⁴⁰⁾

2.2.4 FITOTERAPIA:

La fitoterapia es la ciencia que estudia la utilización de los productos de origen vegetal con finalidad terapéutica, ya sea para prevenir, para atenuar o para curar un estado patológico.

Las plantas han sido utilizadas desde épocas primitivas en el tratamiento de enfermedades. La mayoría de éstas presentan efectos fisiológicos múltiples debido a la presencia de más de un principio activo.⁽⁴¹⁾

2.2.4.1 Plantas medicinales:

Nuestro país está considerado entre los 12 países de mayor diversidad biológica de la Tierra, conocidos como países megadiversos, tanto por el número de especies y recursos genéticos como por la variedad de ecosistemas. El uso de las plantas es de gran importancia en la medicina tradicional. El conocimiento científico de ciertas especies es desconocido y es necesario que aprendamos a investigar los recursos naturales, pero con los métodos y requerimientos técnicos que la ciencia actual exigen. Este conocimiento permitirá determinar los principios activos de las plantas medicinales y estudiar su actividad en el organismo para después aislarlos, obtenerlos y avalar los usos que la medicina popular le atribuye a diversas especies vegetales.

En nuestro medio, algunas plantas medicinales en el área de la salud dental están siendo utilizadas de diversas formulaciones farmacéuticas, así tenemos: los enjuagues bucales, colutorios, soluciones tópicas, pasta dental, entre otros. Los beneficios que ofrecen a la población son mejores tanto en el aspecto terapéutico como económico.⁽⁴²⁾

2.2.4.2 Aceites esenciales

A. definición:

Son llamados así los constituyentes odoríferos o “esencias” de una planta. El término aceite, probablemente, se origina del hecho que el aroma de una planta existe en las glándulas o entre las células en forma líquida, el cual, al igual que los aceites grasos son inmiscibles con el agua. La palabra esencial fue derivada del latín “quinta essentia” que significaba el quinto elemento, asignado a estos aceites, ya que la tierra, el

fuego, el viento y el agua, fueron considerados los cuatro primeros elementos.⁽⁴³⁾

Los aceites esenciales son extraídos de las plantas aromáticas: son aquellas que tienen un contenido sobresaliente en aceites esenciales y representan una amplia variedad de especies. Como grupo son especies valoradas por sus aromas y sabores característicos así como por sus propiedades medicinales. De los millones de plantas existentes en nuestro planeta, se conocen alrededor de 20000 plantas aromáticas y de éstas unos 4000 aceites esenciales distintos.

Los aceites esenciales son compuestos vegetales que debido a su consistencia son muy volátiles y de olor intenso. Se incluyen dentro de este grupo solamente aquellas especies de plantas medicinales que las contienen en concentraciones elevadas, entre 0,1 y 10 %.

Los aceites esenciales son mezclas de varias sustancias químicas biosintetizadas por las plantas, que dan el aroma característico a algunas flores, árboles, semillas y a ciertos extractos de origen animal (almizcle, civeta, ámbar gris). Se trata de productos químicos intensamente aromáticos, no grasos (por lo que no se enrancian), volátiles (se evaporan rápidamente) y livianos (poco densos). Son insolubles en agua, levemente solubles en vinagre, y solubles en alcohol, grasas, ceras y aceites vegetales. Se oxidan por exposición al aire.⁽⁴⁴⁾

Generalmente son mezclas complejas de hasta más de 100 componentes (metabolitos secundarios) que pueden ser: Compuestos alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, Alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos), Monoterpenos, Sesquiterpenos y Fenilpropanos. Estos

metabolitos secundarios cubren un amplio espectro de efectos farmacológicos mostrando diversas propiedades biológicas, como propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, y anticancerígenos (García et al., 2010). Otras actividades biológicas también se reportan como biocidas en contra de una amplia gama de microorganismos como bacterias, hongos, virus, protozoarios insectos y plantas.

Los aceites esenciales se ubican en las diferentes partes de la planta, tales como raíces, tallos, hojas, flores y frutos, cáscara de frutos, encontrándose confinado en un tejido de la planta al cual se le denomina micela. Se encuentran también en diferentes órganos celulares cuya composición puede variar a pesar de extraer el aceite de la misma planta.⁽⁴⁵⁾

B. Propiedades:

- **Color:** Casi todos los aceites esenciales son incoloros en estado puro y frescos; ante la exposición al aire adquieren diversos colores.
- **Olor:** El olor de los aceites volátiles es muy variable es su propiedad más característica. El olor de un aceite es muy sensible ante la exposición al aire.
- **Sabor:** Son tan variables como sus olores. Algunos tan dulces, otros tienen sabores suaves, picantes, ácidos, cáusticos o ardientes.
- **Densidad:** La densidad de los aceites esenciales varía (entre 0.842 y 1.172 g/ml); casi todos son más livianos que el agua.
- **Deterioro:** La exposición a la luz y al aire deteriora la calidad y destruyen la fragancia de los aceites esenciales.

Se deben conservar en botellas de color ámbar bien llenas, tapadas y colocadas en lugar fresco.

- **Solubilidad:** Son solubles a solventes orgánicos como alcohol, el éter, el cloroformo, el benceno y muchos otros.⁽⁴⁶⁾

C. localización y distribución

El aceite esencial se encuentra almacenado en glándulas aceitosas, venas, sacos de aceite, o cabellos glandulares de diferentes partes en la plantas.

Tras su producción, los aceites se almacenan en distintos órganos de la planta. Así, en la raíz y rizomas encontramos el aceite de cúrcuma y jengibre: del fruto se obtiene el aceite de anís, hinojo y enebro y de la semilla la mostaza. Los aceites esenciales se caracterizan por ser una mezcla compleja de varios compuestos de aromas volátiles pertenecientes a diferentes clases de la química orgánica: hidrocarburos (compuestos terpenicos), alcoholes, aldehídos, cetonas, esterés, éteres y fenoles. Obteniéndose de la canela (cinamaldehido), clavo (eugenol), orégano (carvacrol), eucalipto (cineol) y tomillo (timol) entre otros.⁽⁴⁷⁾.

D. composición química de los aceites esenciales

Los constituyentes de los aceites esenciales principalmente son terpenoides. Los compuestos terpénicos proceden de la condensación del isopropeno y pueden o no tener oxígeno. Los que carecen de oxígeno son hidrocarburos: monoterpenos y sesquiterpenos. Que pueden ser aromáticos y alifáticos. Está estimado que hay más de 1000 estructuras de monoterpenos y 3000 sesquiterpenos. Compuestos

oxigenados derivados de estos hidrocarburos son terpenos funcionalizados con función alcohol, fenol, aldehído, cetona, éter o peróxido. Otros componentes pocos frecuentes en los aceites esenciales: compuestos alifáticos y aromáticos no terpenoides, como fenilpropanoides, compuestos nitrogenados y azufrados.⁽⁴⁸⁾

La volatilidad y el marcado olor de los aceites esenciales, constituyen los elementos de la comunicación química en la polinización y en la dispersión de las diásporas. A menudo, constituyen un medio de defensa frente a depredadores (microorganismos, hongos, insectos, herbívoros); estas acciones se facilitan por la localización periférica de los efectos secretores.

Los monoterpenos y Sesquiterpenos de 10 y 15 átomos de carbonos derivados de geranilpirofosfato (GPP) y farnesilpirofosfato (FPP) respectivamente. De acuerdo con su estructura se les clasifica según el número de ciclos como acíclicos, monocíclicos, bicíclicos, etc.⁽⁴⁹⁾

- **Monoterpenos**

Los terpenos de función aldehídos se hallan distribuidos ampliamente en las plantas especialmente valiosas por sus propiedades aromáticas y considerándose un índice de calidad en el valor de los aceites esenciales, muchos de los monoterpenos experimentan cierre de anillo produciendo ácidos cíclicos insaturados. Los principales monoterpenos responsables del aroma son alcoholes y aldehídos.

- **Sesquiterpenos**

Los sesquiterpenos tienen propiedades débiles y son menos volátiles, tienen una densidad aproximada de 0.9 g/ml, su viscosidad es mayor que la de los monoterpenos.

- **Serie aromática: Fenilpropanos**

Los fenilpropanos son sustancias naturales ampliamente distribuidas en los vegetales caracterizados por un anillo aromático unido a una cadena de 3 carbonos y derivados biosintéticamente del ácido shikimico. ⁽⁵⁰⁾

E. extracción de los aceites esenciales

- **Expresión del pericarpio:**

Una bandeja con pinchos, en cuya parte inferior hay un canal para recoger el aceite esencial. Se emplea para cítricos sobre todo.

- **Disolución en grasa (*enfleurage*):**

Los aceites son solubles en grasas y alcoholes de alto %. Sobre una capa de vidrio se coloca una fina película de grasa y sobre ella los pétalos de flores extendidas. La esencia pasa a la grasa, así hasta saturación de la grasa. Posteriormente con alcohol de 70°, se extrae el aceite esencial. Se emplea para flores con bajo contenido en esencias pero muy preciadas (azahar, rosa, violeta, jazmín).

- **Extracción con disolventes orgánicos:**

Que penetran en la materia vegetal y disuelven las sustancias, que son evaporadas y concentradas a baja temperatura. Después, se elimina el disolvente, obteniendo la fracción deseada. La selección del disolvente pretende que sea capaz de

disolver rápidamente todos los principios y la menor cantidad de materia inerte, que tenga un punto de ebullición bajo y uniforme que permita eliminarlo rápidamente, pero evitando pérdidas por evaporación, químicamente inerte, para no reaccionar con los componentes de los aceites, no inflamable y barato. Este disolvente ideal no existe, y los más empleados son el éter de petróleo, con punto de ebullición de 30 a 70 °C, que se evapora fácilmente y es inflamable, benceno, que disuelve también ceras y pigmentos, y alcohol, que es soluble en agua. Se emplea cuando hay componentes de peso molecular elevado que no son lo suficientemente volátiles.

- Extracción con gases en condiciones supercríticas:

Se emplean gases, principalmente CO₂, a presión y temperatura superiores a su punto crítico. En esas condiciones se obtienen buenos rendimientos y se evitan alteraciones de los componentes de la esencia. La infraestructura necesaria es cara, pero tiene sus ventajas, como la fácil y rápida eliminación del gas extractor por descompresión, la ausencia de residuos de disolventes y que los gases no resultan caros.⁽⁵¹⁾

- Destilación por arrastre de vapor

Las plantas se colocan sobre un fondo perforado o criba ubicado a cierta distancia del fondo de un tanque llamado alambique. La parte más baja de esta contiene agua hasta una altura algo menor que el nivel de la criba. El calentamiento se produce con vapor saturado que se provee de una fuente de calor que compone el equipo, fluye mojado y a presión baja, penetrando a través del material vegetal. Los componentes se volatilizan, y condensan en un refrigerante, siendo recogidos

en un vaso florentino, donde se separa el agua del aceite por diferencia de densidad. ⁽⁵²⁾

F. Usos de los aceites esenciales

La diversidad de componentes terpenoides dotados de actividad antimicrobiana que forma parte de los aceites esenciales contribuye a que se muestren activos frente a bacterias patógenas variadas e incluso frente a distintos hongos responsables de la aparición de micosis, presentando en conjunto un amplio espectro de actuación. Se ha sugerido la posibilidad de que los aceites esenciales inhiban con más facilidad a los microorganismos Gram positivos que a los Gram negativos.

Los aceites esenciales destacan debido a sus propiedades antimicrobianas, que determinan su empleo al exterior en el tratamiento de llagas, ulceraciones, abscesos, infecciones, etc. Entre los aceites esenciales más utilizados con esta finalidad se encuentran el "tomillo", "laurel", "lavanda", "romero". Especialmente merece mencionar la esencia de clavo de olor, y del orégano. Los aceites esenciales también son ampliamente usados, en el tratamiento de procesos infecciosos respiratorios y urinarios. Ello se debe a que un número elevado de aceites esenciales, cualquiera sea su vía de administración (oral, rectal, cutánea) es eliminado por vía pulmonar, así como renal. ⁽⁵³⁾

Los aceites esenciales se utilizan por vía interna con fines terapéuticos: actúan sobre afecciones virales, destruyen los microbios, los hongos, las toxinas infecciosas; y, por vía externa para un tratamiento de belleza integral (cara, cuerpo, cabello). Pasan muy fácilmente a través de la piel, atraviesan las diferentes capas para reunir el flujo sanguíneo, en unos

veinte minutos aproximadamente, y actúan en profundidad en el organismo. Penetran también por la vía respiratoria: inhalar su perfume proporciona un bienestar profundo.

Su potencia es tal que no se utilizan puros sobre la piel; algunos pueden provocar quemaduras. Ricos en vitaminas y en ácidos grasos insaturados, hidratan y nutren la piel en profundidad, y permiten la penetración de los activos benéficos de los aceites esenciales en la epidermis y la dermis.

- **Industria alimentaria:** Se emplean para condimentar carnes preparadas, embutidos, etc. También son utilizados en la preparación de alcohólicas y no alcohólicas especialmente refrescos.
- **Desodorantes industriales:** Para disminuir el olor desagradable de algunos productos industriales como el caucho, los plásticos y las pinturas. En papelería para impregnar fragancias a cuadernos, tarjetas, papel higiénicos, toallas faciales.
- **Industria de cosméticos:** En la producción de cosméticos, colonias, jabones, perfumes y maquillaje.
- **Industria Tabacalera:** Demanda mentol para los cigarrillos mentolados.

Industria Farmacéutica: Se usan en cremas dentales, inhalantes para descongestionar las vías respiratorias. Son utilizados en neutralizantes de sabor desagradable de muchos medicamentos. ⁽⁵⁴⁾

2.2.4.3 Descripción del *Cinnamomum zeylanicum* Breyn (canela):

A. descripción:

Cinnamomum zeylanicum Breyn “Canela” pertenece a la familia Lauraceae es un pequeño árbol que alcanza entre 3 y 10 m. de altura; su tronco suele llegar a los 50cm de diámetro. Sus ramas no son redondas, sino que presentan cuatro aristas romas, sólo erectas en su parte superior; están recubiertas por dos cortezas: una de color blanco amarillento y otra más esponjosa e intensamente aromática. Sus hojas, de colores verde amarillento, brillantes, ovaladas u oblongas, miden 15 a 20 cm de largo; presentan punta algo coriácea y una fina retícula por el envés, sobre todo cuando son jóvenes. Las flores son terminales, blancas o purpúreas, pequeñas y sedosas. Las hojas también presentan aroma y sabor típicos de la canela, mientras que el olor de sus flores resulta desagradable. El fruto es una baya de tamaño de un guisante, de color azul o negro y sabor picante cuando está verde; en su interior contiene usualmente dos semillas.

B. Hábitat:

Esta planta es originaria de Ceilán y suroeste de la India. Está presente en climas cálidos, semicálidos, semisecos y templados, entre los 100 y 200 msnm. Cultivado en huertos familiares, solares o presente en terrenos de cultivo abandonados, asociada a vegetación secundaria derivada de bosques tropicales caducifolio, subcaducifolio, subperennifolio y perennifolio, además del bosque mesófilo de montaña y bosque de pino.⁽⁵⁵⁾

C. Taxonomía.

Reino: Vegetal

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Dicotiledoneae

Orden: Laurales

Suborden: Magnoliineae

Familia: Lauraceae

Género: *Cinnamomum*

Especie: *Cinnamomum zeylanicum* Breyn

Nombre Popular: Canela de Ceilán, cinamomo. Canyella, Kanelondo, Caneleiro, Canelle, Zimt, Cinnamon, Cannella.

(56)

D. Composición química

Los principales componentes del aceite esencial (0,5-2%) de la corteza son: Aldehído cinámico (50-80%), Eugenol (9-10%), safrol (0-11%), linalol (10-15%), contiene otros fenilpropanoides (aldehído hidroxicinámico, aldehído o-metoxicinámico, alcohol cinámico y su acetato) y terpenos (limoneno y α -terpineol).

Mientras que en las hojas el eugenol está presente en un 80%.⁽⁵⁷⁾

E. Propiedades medicinales

Según la medicina tradicional *Cinnamomum zeylanicum* “canela” es usado como estimulante, aromático, aperitivo, astringente, carminativo, digestivo, para ayudar a la secreción de jugo gástrico, en el tratamiento de náuseas, vómito, reumatismo, gripe, hipertensión y malestares femeninos. También se le atribuyen propiedades afrodisiacas y acción contra las hemorragias, antirreumática, antiséptica, antidiarreica.

Asimismo propiedades como espasmolítico, antibacteriano, antihelmíntico, dispepsia, flatulencia, anorexia, cólico intestinal, fungicida, antioxidante, anti ulcerogénico, inflamaciones de la boca y la faringe, diarreas infantiles, influenza, debilidad, convalecencia y externamente para tratar heridas.⁽⁵⁸⁾

Las inhalaciones del vapor de agua hirviendo con 5 gotas de aceite de canela se utilizan para combatir la tos y la irritación respiratoria. La dilución de 10 ml de aceite de canela en 25 ml de aceite de almendras o de girasol aplicada en forma de masaje se emplea contra cólico abdominal y diarrea. Las compresas con decocción o tintura de canela se usan para aliviar los dolores artríticos y reumáticos.⁽⁵⁹⁾

CAPITULO III:

HIPÓTESIS, VARIABLES Y DEFINICIONES OPERACIONALES

3.1 Hipótesis:

Hi: El aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela) posee mayor acción antibacteriana que el cloruro de Cetilpiridinio al 0.05% y la Clorhexidina al 0.12% frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277.

3.2 Operacionalización de las variables:

- Variables independientes:

Aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela)

Cloruro de Cetilpiridinio al 0.05%

Clorhexidina 0.12%

-Variable dependiente:

Bacteria periodontopatógena *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277

VARIABLES INDEPENDIENTES	INDICADOR	CATEGORIA	ESCALA
Actividad antibacteriana del Aceite esencial <i>Cinnamomum zeylanicum</i> (canela)	Diámetro del halo de inhibición	Medida en mm	Cuantitativa nominal
	Diámetro de halo de inhibición (Según las pautas de Duraffourd)	Nula (-): $\leq 8\text{mm}$ Sensible límite (+): de 9 mm a 14 mm Muy Sensible (++) : 15 mm a 19 mm Sumamente sensible (+++): $\geq 20\text{ mm}$	Cualitativa Razón
Cloruro de Cetilpiridinio al 0.05% Clorhexidina al 0.12%	Diámetro del halo de inhibición	Medida en mm	Cuantitativa Nominal
	Diámetro de halo de inhibición (Según las pautas de Duraffourd)	Nula (-) : $\leq 8\text{mm}$ Sensible límite (+): de 9 mm a 14 mm Muy Sensible (++) : 15 mm a 19 mm Sumamente sensible (+++): $\geq 20\text{ mm}$	Cualitativa Razón
VARIABLE DEPENDIENTE	INDICADOR	CATEGORIA	ESCALA
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Crecimiento bacteriano de la cepa.	Turbidez UFC $1,5 \times 10^8$	Cuantitativa Nominal

CAPITULO IV

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

4.1 Diseño:

Experimental: Porque se valoró el efecto varias variables, donde se manipularon las condiciones de la investigación.

Prospectivo: porque los datos fueron registrados conforme a la ocurrencia de los hechos.

Comparativo: Porque permitió contrastar los resultados con todas las sustancias experimentales.

Longitudinal: Porque las variables de estudio fueron observadas a lo largo de un tiempo determinado.

In vitro: Porque la técnica para realizar el experimento se hizo en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo.

4.2 Ámbito de estudio:

El estudio se desarrolló en los laboratorios de la Escuela de Biología y Microbiología de la Facultad de Ciencias, en la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann de Tacna (UNJBG) ubicada en la Av. Miraflores S/N.

La UNJBG cuenta con laboratorios completos y bien equipados donde muchos tesisistas realizan la ejecución de sus experimentos y trabajos de investigación.

4.3 Población y muestra:

Microbiano: *Porphyromonas gingivalis* cepa ATCC 33277.

4.4 Material de laboratorio:

Equipos:

- | | |
|---------------|----|
| - Autoclave. | 01 |
| - Estufa. | 01 |
| - Incubadora. | 01 |

- Balanza analítica.	01
- Equipo de destilación.	01
- Nefelómetro de Mc Farland.	01
- Equipo de vórtex	01

Materiales de vidrio:

- Tubos de ensayo con tapa rosca de 15 x 125 mm	20
- Tubos de ensayo de 13 x100 mm y 40 de 15 x 125 mm	20
- Placas Petri de 10 x100 mm	40
- Matraces de 500 ml	04
- Matraces de 250 ml	04
- Matraces de 100 ml.	04
- Pipetas Pasteur	04
- Micro pipetas	04
- Vasos precipitados de 200 ml.	05
- Frasco de vidrio color ámbar de 100 ml capacidad.	10
- Frascos de vidrio de 500 ml capacidad.	06
- Probeta de 100 ml	01

Medios de cultivo y reactivos:

- Bacteria <i>Porphyromona gingivalis</i> ATCC 33277 liofilizado	01 s.
- Agar Mueller Hinton (MH).	200gr
- Caldo Mueller Hinton (MH).	200gr
- Caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI).	200gr

- Discos de sensibilidad	2s.
-DimetilSulfóxido 10% (DMSO).	20ml
- Anaerogen	15 s.
-Alcohol de 70°C	01
-Ron de quemar	01
Otros:	
-Asa de Kolle	01
-Asa de Drigalsky	01
-Gradillas	05
-Espátulas	05
-Pinzas	05
-Papel Kraft	05
-Mascarillas	10
-Guantes quirúrgicos	10
-Guardapolvo	01
-Jeringa de tuberculina	05
-Algodón	01
-Pabilo	02
-Papel aluminio	05
- Vernier	01
-Marcadores	02
-Calculadora	01

4.5 Metodología:

4.5.1 Diseño experimental:

Para evaluar la actividad biológica del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela) se llevaron a cabo 3 procesos: la activación de la cepa bacteriana, la preparación del inóculo y las pruebas del efecto antibacteriano (Difusión en disco, Concentración Mínima Inhibitoria CMI y la Concentración Mínima Bactericida CMB).

Del mismo modo se procedió con la Clorhexidina al 0,12% y el Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05%, a realizar la prueba de difusión en disco, exceptuando la prueba de dilución para hallar la CMI y CMB.

La técnica para la prueba de sensibilidad se realizó siguiendo los parámetros de las normas técnicas del ministerio de salud nacional. ⁽⁶¹⁾

4.5.2 *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela):

4.5.2.1 Recolección:

La corteza de canela en estudio se obtuvo de la feria comercial “El Altiplano”, comprando 1000 gramos de la muestra para los fines de estudio.

La corteza fue recolectada verificando que no presente signos de deterioro que interfiera en el desarrollo de la tesis, y fueron almacenadas en bolsas de papel Kraft para su traslado y conservación hasta su identificación y procesamiento. (Anexo foto N°01)

4.5.2.2 Extracción del aceite esencial:

Las cortezas de canela fueron trozadas en tamaños más pequeños para facilitar la extracción, agrupándose luego en muestras de 250 gr, las cuales fueron embolsadas en papel kraft. La obtención del aceite esencial de la corteza se realizó

por el método de destilación por arrastre de vapor de agua. El equipo de destilación estuvo compuesto por un sistema de doble balón, uno de los cuales contuvo agua destilada (700 ml) y fue sometido a calor directo; mientras que el segundo (Capacidad 1000 ml) contuvo 250 gramos de la corteza de *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela), siendo éste el que recibió los vapores de agua, para luego, el vapor producido arrastre los aceites esenciales hasta el refrigerante. Este cambio de temperatura hizo que el vapor se condense y se vuelva nuevamente líquido (agua- aceite). El producto destilado fue recibido en un depósito estéril y cerrado, observándose un estado bifásico entre agua y aceite esencial, por la diferencia de densidades y utilizando pipetas Pasteur, fueron separados el aceite esencial del agua, para luego almacenarse en un tubo de vidrio con tapa rosca cerrado herméticamente y envuelto en papel aluminio para proteger de la luz del ambiente. El aceite esencial fue almacenado a temperatura ambiente y en oscuridad hasta su utilización. (Anexo foto N°02)

Especie Vegetal	<i>Cinnamomum zeylanicum Breyn (canela)</i>
Aspecto	Líquido translúcido
Color	Ámbar
Olor	Suigéneris
Sabor	Ligeramente Picante

Fuente: Elaboración propia

4.5.2.3 Determinación de la concentración del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn (canela):

Donde:

Peso de Probeta vacía = 22,5267 gr

Peso de Probeta con aceite = 24,3651 gr

Masa = 24,3651 - 22,5267 = 1,8384 gr

Volumen = 2,1mL.

D = densidad

M = masa

V = volumen

$$D = m/v$$

$$D = \frac{1,8384 \text{ gr}}{2,1 \text{ ml}}$$

$$D = 0,8754 \text{ gr/ml}$$

$$\text{cc} \quad : \quad 1\text{gr} \longrightarrow 1000\text{mg}$$

$$0,8754 \text{ gr/ml} \longrightarrow x \text{ mg}$$

$$x = 875,4 \text{ mg/ml}$$

4.5.2.4 Rendimiento de aceite esencial (RAE):

Se determinó el % RAE por el método de gravimetría-volumétrico, mediante el método de arrastre por vapor de agua. A partir de 250gr de las cortezas de *Cinnamomum zeylanicum* *Breyn* (canela) que se usó en cada una de las 4 destilaciones, se obtuvo un rendimiento de 0,7 %, aplicando la siguiente fórmula:

$$\%RAE = \frac{\text{Vol. A.E. (ml)} \times 100}{W \text{ muestra (g)}}$$

Donde:

%RAE= Porcentaje de rendimiento del aceite esencial

Vol. A.E.= Volumen del aceite esencial obtenido

W muestra = Peso de la muestra a destilar

$$\% RAE = \frac{7\text{ml} \times 100}{1000\text{mg}}$$

$$\% RAE = 0,7 \%$$

4.5.3 Clorhexidina al 0,12%:

La Clorhexidina al 0,12%, empleada en el tratamiento de la enfermedad periodontal, se obtuvo en una farmacia local, en la marca Colgate como PerioGard con Gluconato de Clorhexidina al 0,12%.

4.5.3.1 Obtención de la concentración de Clorhexidina al 0,12%:

Se obtuvo la concentración de Clorhexidina al 0,12% a partir de su porcentaje, aplicando la siguiente fórmula:

$$\begin{array}{l} 0,12 \text{ gr} \text{ ————— } 100 \text{ ml} \qquad 1 \text{ gr} \text{ ————— } 1000 \text{ mg} \\ x \text{ ————— } 1 \text{ ml} \qquad 0,0012 \text{ gr} \text{ ————— } x \\ x = 0,0012 \text{ gr} \qquad x = 1,2 \text{ mg/ml} \end{array}$$

4.5.4 Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05%:

El Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05%, principio activo de la mayoría de los colutorios bucales, se obtuvo también en una farmacia local, en la marca oral B Complete. (Anexo foto N°03)

4.5.4.1 Obtención de la concentración del Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05%:

Se obtuvo la concentración del Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05% a partir de su porcentaje, aplicando la siguiente fórmula:

$$\begin{array}{l} 0,05 \text{ gr} \text{ ————— } 100 \text{ ml} \qquad 1 \text{ gr} \text{ ————— } 10000 \text{ mg} \\ x \text{ ————— } 1 \text{ ml} \qquad 0,0005 \text{ gr} \text{ ————— } x \\ x = 0,0005 \text{ gr} \qquad x = 0,5 \text{ mg/ml} \end{array}$$

4.5.5: Cepa Bacteriana *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277

La bacteria fue comprada al laboratorio MicroBiologics: *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 (Anexo Foto N° 04)

4.5.5.1 Activación de la cepa:

Para su activación, se reconstituyó la cepa liofilizada en medios de cultivo, siendo sembrada hasta su total crecimiento, para ello se usó 1 placa de Agar Base Sangre, a continuación dicha placa sembrada, se colocó en un ambiente anaerobio (jarra de anaerobiosis). En condiciones estériles, esta jarra fue llevada a la incubadora a 37° por 7 días

Pasados los 7 días, se obtuvo crecimiento en la placa de Agar, la cual fue utilizada para la preparación del inóculo. (Anexo foto N°5)

4.5.5.2 Preparación del inóculo:

Se tomó con un asa de kolle, varias colonias desarrolladas en el medio de cultivo, las que se transfirieron a un tubo que contenía caldo Mueller Hinton, se homogenizaron con uso de un vórtex, dicho tubo se incubó a 37°C y en anaerobiosis. La incubación se mantuvo hasta que la turbidez coincidió con el tubo N° 0.5 de la escala de Mc Farland ($1,5 \times 10^8$ microorganismos/ml). Esto se logró, generalmente en 2 a 4 horas.

4.5.6 Evaluación de la acción antibacteriana del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn (canela):

La actividad antibacteriana del aceite esencial se evaluó por el método de Kirby Bauer (difusión en disco), para ello se realizaron 6 tratamientos, cada uno de ellos con sus respectivas repeticiones. Una vez obtenidos los valores de los halos de inhibición, se

procedió a realizar la técnica de dilución para hallar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB).

4.5.6.1 Preparación de los discos de sensibilidad:

Para esta prueba se utilizaron discos de sensibilidad de papel filtro (Wathman N° 42), de aproximadamente 6 mm de diámetro, las cuales se colocaron en un beaker de 100 ml con agua destilada para su esterilización y desnaturalización del antibiótico (amoxicilina) en autoclave (121°C, 15 lb de presión por 15 minutos). (Anexo foto N° 6)

Posteriormente, se vació el agua del beaker que contuvo la solución desnaturalizada y se los llevó a estufa regulada a 170°C por 1 hora para su secado, y posterior utilización.

4.5.6.2 Preparación del medio para la prueba de sensibilidad:

Se empleó el medio Mueller Hinton, Se preparó el medio como indica la casa comercial (34 gr en 1000 ml).

4.5.6.3 Inoculación:

Se inoculó en la placa de agar Mueller Hinton, utilizando la suspensión estandarizada de bacterias a una concentración de $1,5 \times 10^8$ microorganismos/ml (UFC). Se depositó 100 μ l del inóculo bacteriano sobre la superficie del agar de cada placa correspondiente, se homogenizó con un asa de drigalsky para asegurar una distribución uniforme del inóculo. Se taparon las placas y dejaron secar durante algunos segundos a temperatura ambiente antes de colocar los discos con las respectivas concentraciones. Una vez absorbido el inóculo y con la ayuda de una pinza estéril se procedió a colocar 4 discos por cada placa de agar Mueller Hinton. A los discos se les añadió aceite esencial puro, los

que fueron embebidos con 0,25 μ l, 0,30 μ l, 0,35 μ l, 0,40 μ l, 0,45 μ l, 0,50 μ l. Se presionó suavemente para asegurar el contacto con el medio. El cuarto disco fue embebido con agua destilada para el control negativo. Se emplearon un total de 12 placas para esta prueba. (Anexo foto N°7)

TABLA 1.- Concentraciones del aceite esencial de Cinnamomum zeylanicum Breyn en los discos de sensibilidad

ACEITE ESENCIAL PURO		
N° de tratamiento	Volumen (μl)	Concentración (mg/ml)
T1	0,25	0,21885
T2	0,30	0,26262
T3	0,35	0,30639
T4	0,40	0,35016
T5	0,45	0,39393
T6	0,50	0,4377

Fuente: elaboración propia

4.5.6.4 Incubación:

Las placas fueron incubadas a 37 °C durante 24 horas en cámara de anaerobiosis para ver los halos de inhibición. (Anexo foto N°8)

4.5.6.5 Lectura:

Posterior al periodo de incubación, se midieron los halos de inhibición de crecimiento con el vernier en unidades de milímetros. La lectura se realizó midiendo los halos de inhibición sobre el crecimiento del microorganismo alrededor del disco. El diámetro de ésta zona de inhibición fue directamente proporcional a la actividad antimicrobiana del aceite esencial sobre *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. Para interpretar los resultados se tomó como referencias las pautas por DURAFFOURD y LAPRAZ ⁽⁶⁰⁾, (1983) que considera la actividad de los aceites esenciales como:

Nula (-) si fue inferior o igual a 8 mm

Sensibilidad límite (Sensible=+) de 9 a 14 mm

Sensibilidad media (muy sensible = ++) de 15 a 19 mm

Sumamente sensible (S.S.= +++) igual ó superior a 20 mm

4.5.6.6 Determinación de la concentración mínima inhibitoria

A. Preparación del inóculo bacteriano Pg

La bacteria que se utilizó en el trabajo se cultivó en viales de agar Mueller Hinton para su mantenimiento, siendo activadas y enriquecidas en caldo BHI, luego incubadas a 37 °C por el lapso de 4 a 6 horas hasta llegar a una concentración de $1,5 \times 10^8$ microorganismos/ml (UFC) y comparada con el tubo 0,5 de la escala de Mac Farland.

B. Preparación de la solución madre:

Se preparó una solución madre de 20 000 μl totales: 1000 μl de aceite esencial con 1000 μl de Dimetilsulfóxido 10% (DMSO) y 18000 μl de caldo infusión cerebro corazón (BHI). La concentración final se obtuvo de la siguiente manera:

A partir de la densidad obtenida = 0,8754 gr/ml => 875,4 mg/ml

Esta concentración fue diluida en 20 000 μl de solución total por lo cual se consiguió una concentración final de:

$$875,4 \longrightarrow 20000 \mu\text{l}$$

$$X \longrightarrow 1000 \mu\text{l}$$

$$X = 43,77 \text{ mg/ml}$$

Esta cifra es la concentración final en la solución madre, es decir que en 20 000 μl de solución madre está concentrada 43,77 mg/ml de aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn (canela).

C. Preparación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) para P. G. ATCC 33277: (Anexo foto N° 9)

Se colocaron 15 tubos de 15 X 125 mm a los cuales se les agregó lo siguiente:

TABLA 2.- Preparación de la concentración mínima inhibitoria para *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277

N° tratamientos	volumen solución madre (µl)	vol. caldo BHI (µl)	volumen total (µl)	[] inicial (mg/ml)	[] final (mg/ml)	P.G. (µl)
T 1	24	2976	3000	1,05048	0,35016	300
T2	24,5	2975,5	3000	1,072365	0,357455	300
T3	25	2975	3000	1,09425	0,36475	300
T4	25,5	2974,5	3000	1,116135	0,372045	300
T5	26	2974	3000	1,13802	0,37934	300
T6	26,5	2973,5	3000	1,159905	0,386635	300
T7	27	2973	3000	1,18179	0,39393	300
T8	27,5	2972,5	3000	1,203675	0,401225	300
T9	28	2972	3000	1,22556	0,40852	300
T10	28,5	2971,5	3000	1,247445	0,415815	300
T11	29	2971	3000	1,26933	0,42311	300
T12	29,5	2970,5	3000	1,291215	0,430405	300
T13	30	2970	3000	1,3131	0,4377	300
T14 C+	-	2970	3000	-	-	300
T15 C-	-	2970	3000	-	-	-

Fuente: Elaboración propia

B. Incubación:

Los diferentes tratamientos se compararon con los siguientes controles: Control positivo (30 µl DMSO + 2970 µl BHI + 300 µl Solución bacteriana) y Control negativo (30 µl DMSO + 2970 µl caldo BHI)

Se llevó a incubación en cámara de anaerobiosis por espacio de 24 horas a 37°C.

C. Lectura:

Al cabo de las 24 horas se observa la turbidez de los tubos que indicó desarrollo bacteriano. El tubo que no presentó turbidez indicó la ausencia del crecimiento bacteriano (igualando al control negativo), que se designa como la Concentración mínima inhibitoria (CMI). (Anexo foto N°10)

4.5.6.7 Determinación de la concentración mínima bactericida (CMB):

Se tomaron a partir del primer tubo que no presentó turbidez, tres tubos en total sin turbidez (T7, T8, T9); de cada uno de ellos se resembró 100 ul de solución por diseminación en placas que contenían agar Mueller Hinton. Las placas se dejaron secar por 5 minutos para luego incubarlas a 37°C por 24 horas en cámara de anaerobiosis. Transcurrido este tiempo se contó el número de unidades formadoras de colonias (UFC) presentes para cada concentración del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Breyn.* (Anexo Foto N° 11)

4.5.7 Evaluación de la acción antibacteriana de Clorhexidina al 0,12%:

Se trabajó en un inicio con un tratamiento con su respectiva repetición y con el máximo volumen con el que se trabajó el aceite de *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela), es decir 0,50ul, pero con distinta concentración como se muestra en el siguiente cuadro:

TABLA N°3.-Volumen y Concentración de Clorhexidina al 0,12%

Clorhexidina al 0,12%		
N° de tratamiento	Volumen μ l	Concentración mg/ml
01	0,50	0,0006

Fuente: elaboración propia

4.5.7.1 Preparación del medio para la prueba de sensibilidad:

A. Inoculación :

Se inoculó en las placas de Mueller Hinton utilizando la suspensión estandarizada del tubo 0,5 de la escala de Mc Farland, depositándose también 100 ul del inóculo bacteriano.

B. Incubación:

Se incubó las placas Petri a 37°C por un lapso de 24 horas. en cámara de anaerobiosis para observar luego de transcurrido este tiempo la formación de los halos de inhibición. (Anexo foto N° 12)

C. Lectura:

Posterior al periodo de incubación se midieron los halos de inhibición con un vernier.

Luego, al no encontrar los resultados previstos, se procedió a aumentar los volúmenes y por lo tanto sus concentraciones, en este caso fueron 6 tratamientos más, tal como se observa en la siguiente tabla:

TABLA N°4.- Concentraciones y volúmenes modificados de Clorhexidina al 0,12% en los discos de sensibilidad.

Clorhexidina al 0,12%		
N° de tratamiento	Volumen µl	Concentracion mg/ml
01	5	0,006
02	10	0,012
03	15	0,018
04	20	0,024
05	25	0,030
06	30	0,036

Fuente: elaboración propia

Se realizaron los mismos procedimientos anteriores hasta poder encontrar y medir los halos de inhibición.

4.5.8 Evaluación de la acción antibacteriana de Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05%:

Se trabajó en un inicio con un tratamiento con su respectiva repetición y con el máximo volumen con el que se trabajó el aceite de *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela), es decir 0,50ul, pero con distinta concentración como se muestra en la siguiente tabla:

TABLA N°5.- Volumen y concentración de Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05%

Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05%		
N° de tratamiento	Volumen μl	Concentración mg/ml
01	0,50	0,00025

Fuente: elaboración propia

4.5.8.1 Preparación del medio para la prueba de sensibilidad:

A .Inoculación:

Se inoculó en las placas de Mueller Hinton utilizando la suspensión estandarizada del tubo 0,5 de la escala de Mc Farland, depositándose también 100 ul del inóculo bacteriano.

B. Incubación:

Se incubó las placas Petri a 37°C por un lapso de 24 Hrs en cámara de anaerobiosis para observar luego de transcurrido este tiempo la formación de los halos de inhibición.

C. Lectura:

Posterior al periodo de incubación se midieron los halos de inhibición con el vernier. (Anexo foto N° 13)

Luego, al no encontrar los resultados previstos, se procedió a aumentar los volúmenes y por lo tanto sus concentraciones, en este caso fueron 6 tratamientos más, tal como se observa en la siguiente tabla:

TABLA N°6.- Volúmenes y Concentraciones modificadas de Cloruro de Cetilpiridinio en los discos de sensibilidad

Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05%		
N° de tratamiento	Volumen μl	Concentracion mg/ml
01	5	0,0025
02	10	0,005
03	15	0,0075
04	20	0,01
05	25	0,0125
06	30	0,015

Fuente: elaboración propia

Se realizaron los mismos procedimientos anteriores hasta poder encontrar y medir los halos de inhibición.

CAPITULO V:
PROCEDIMIENTOS DE ANALISIS
DE DATOS

5.1 Análisis de datos:

El presente trabajo de investigación se basó en un estudio experimental, todos los datos fueron procesados de la siguiente manera:

- Programa Word, como procesador de texto.
- Programa Excel, para la captura de base de datos, diseño de tablas y gráficas.
- Programa estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versión 18.0 para Windows.
- Para el análisis estadístico se utilizó la prueba estadística T student con un nivel de significación de 0,05.

CAPITULO VI:

RESULTADOS

Se realizó el estudio “in vitro” de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* **Breyn** (canela) frente al agente bacteriano *Porphyromonas gingivalis* **ATCC 33277**, para lo cual se realizaron 6 tratamientos en Kirby Bauer con sus respectivas repeticiones; para la CMI, 15 tratamientos; y para la CMB 3 tratamientos.

Asimismo se determinó la sensibilidad de *Porphyromona gingivalis* **ATCC 33277** frente al aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* **Breyn** (canela), frente a Clorhexidina al 0,12%, para los cuales se realizaron 7 tratamientos; y frente a Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05% donde también se realizaron 7 tratamientos.

Posteriormente, se determinó la composición fitoquímica del aceite esencial extraído de la corteza de *Cinnamomum zeylanicum* **Breyn** “canela”, presente en nuestro medio; mediante cromatografía gaseosa con detección de masa.

Los resultados obtenidos en las diferentes pruebas han sido agrupados en cuadros y gráficas para su mejor interpretación.

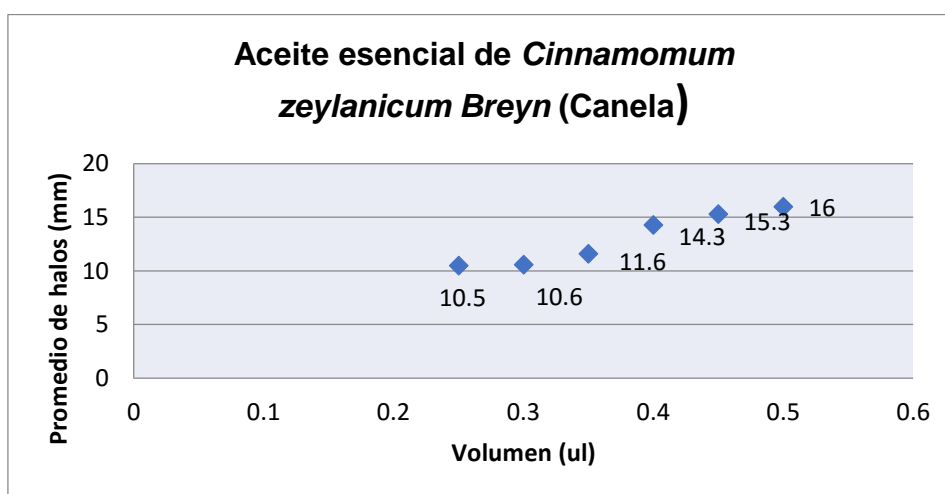
CUADRO N° 1.- Prueba de la Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn “canela” frente a *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277 por el método de difusión en disco (Kirby Bauer)

Aceite esencial		Placa 1			Placa 2			Promedio mm
Volumen (µl)	[] (mg/ml)	Halo 1 mm	Halo 2 mm	Halo 3 mm	Halo 4 mm	Halo 5 mm	Halo 6 mm	
0,25	0,21885	10	11,5	10	10,5	10	11	10,5
0,30	0,26262	12	10	10,5	9	12	10,5	10,6
0,35	0,30639	11	12	11	12	12	12	11,6
0,40	0,35016	14	13	16	14	15	14	14,3333
0,45	0,39393	14	16	16	15	15	16	15,3
0,50	0,4377	16	16	16	15	17	16	16

Fuente: Elaboración propia

En el cuadro N° 1, se presentan los promedios de halos de inhibición determinados por las diferentes concentraciones del aceite esencial, observándose que entre las concentraciones de 0,35016 mg/ml y 0,4377 mg/ml existe sensibilidad al aceite esencial de acuerdo a la escala de Duraffourd y Lapraz para antibióticos.

GRAFICO N° 1: Representación gráfica de los halos de inhibición de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn (canela)



CUADRO N° 2.-Prueba de la Actividad antibacteriana de Clorhexidina al 0,12% frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 por el método de difusión del disco (Kirby Bauer)

Clorhexidina al 0,12%		Placa 1			Placa 2			Promedio mm
Volumen (µl)	[] (mg/ml)	Halo 1 mm	Halo 2 mm	Halo 3 mm	Halo 4 mm	Halo 5 mm	Halo 6 mm	
0,50	0,0006	-	-	-	-	-	-	-

Fuente: elaboración propia

En el cuadro N° 2 se observa que la Clorhexidina al 0,12% con un volumen de 0,50 µl y una concentración de 0,0006 mg/ml no forma halos de inhibición en ninguno de los discos, lo que quiere decir que ésta concentración es muy baja para que se obtenga alguna acción

antibacteriana. En consecuencia, se determinó trabajar con mayores cantidades de volúmenes para lograr la acción antibacteriana.

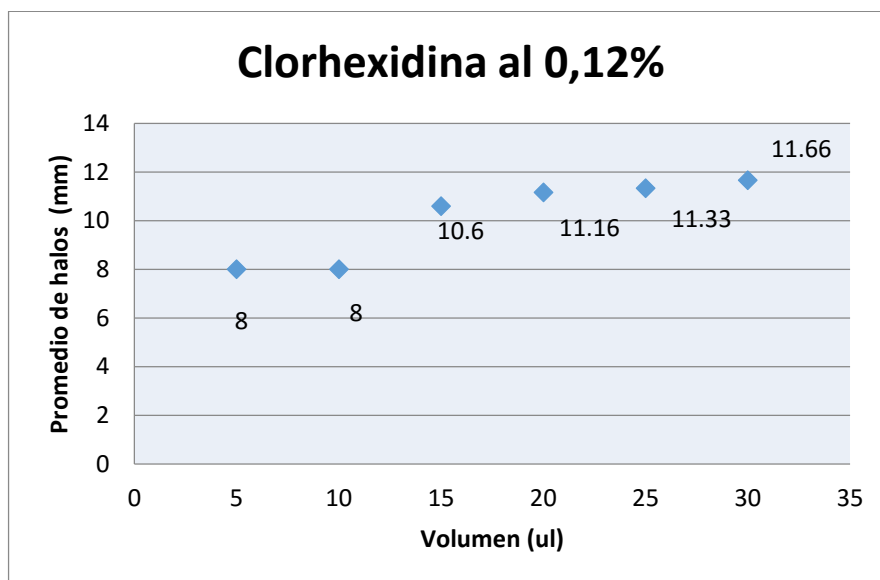
CUADRO N° 3.-Prueba de la Actividad antibacteriana de Clorhexidina al 0,12% frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 por el método de difusión del disco (Kirby Bauer)

Clorhexidina al 0,12%		Placa 1			Promedio mm
Volumen (µl)	[] (mg/ml)	Halo 1 mm	Halo 2 mm	Halo 3 mm	
5	0,006	-	8	-	8
10	0,012	8	6	10	8
15	0,018	13	11	8	10,6
20	0,024	11,5	10	12	11,16
25	0,030	11	11	12	11,33
30	0,036	10	13	12	11,66

Fuente: elaboración propia

En el cuadro 3 se presentan los promedios de los halos de inhibición determinados por las diferentes concentraciones de Clorhexidina al 0,12%, observándose que entre las concentraciones 0,18 mg/ml y 0,036 mg/ml existe sensibilidad a la Clorhexidina al 0,12% , de acuerdo a la escala de Duraffourd y Lapraz.

GRAFICO N°2.-Representación gráfica de los halos de inhibición de Clorhexidina al 0,12%



CUADRO N° 4.-Prueba de la Actividad antibacteriana de Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05 % frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 por el método de difusión en disco (Kirby Bauer)

Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05%		Placa 1			Placa 2			Promedio mm
Vol. (µl)	[] (mg/ml)	Halo 1 mm	Halo 2 mm	Halo 3 mm	Halo 4 mm	Halo 5 mm	Halo 6 mm	
0,50	0,00025	-	-	-	-	-	-	-

Fuente: elaboración propia

Como se puede observar en el cuadro N° 4 con un volumen de 0,50ul y una concentración de 0,00025ul para Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05% no se forman en ninguno de los casos halos de inhibición. En consecuencia, se determinó

realizar otra repetición con mayores volúmenes y por lo tanto mayores concentraciones.

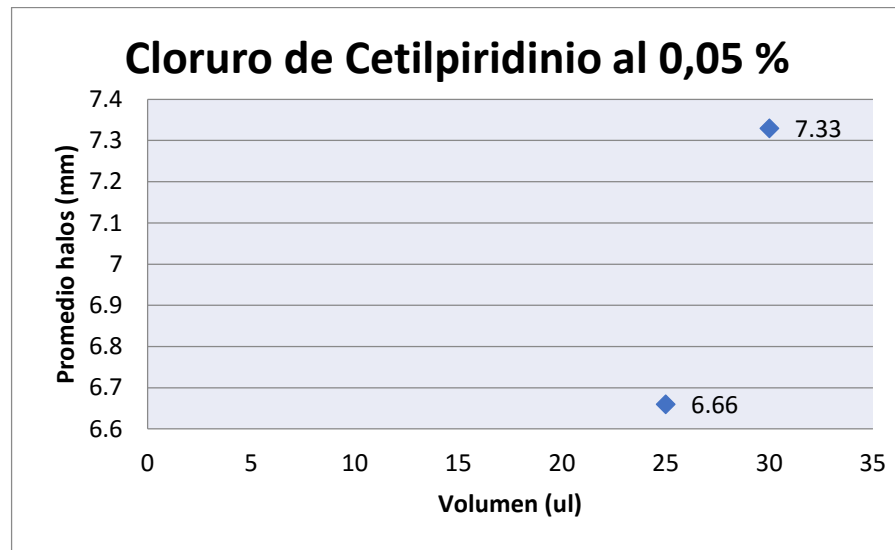
CUADRO N° 5.-Prueba de la Actividad antibacteriana de Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05 % frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 por el método de difusión de disco (Kirby Bauer)

Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05%		Placa 1			Promedio mm
Volumen (µl)	[] (mg/ml)	Halo 1 mm	Halo 2 mm	Halo 3 mm	
5	0,0025	-	-	-	-
10	0,005	-	-	-	-
15	0,0075	-	-	-	-
20	0,01	-	-	-	-
25	0,0125	7	6	7	6,6666
30	0,015	7	8	7	7,3333

Fuente :elaboración propia

En el cuadro 5 se presentan los promedios de los halos de inhibición determinados por las diferentes concentraciones de Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05%. Se observa que ninguna de estas concentraciones alcanza el promedio significativo según la escala de Duraffourd y Lapraz para calificarlos como sensible a la cepa bacteriana en estudio.

GRAFICO N° 3.-Representación gráfica de los halos de inhibición del Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05%



CUADRO N° 6.- Determinación del grado de sensibilidad de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 a diferentes concentraciones del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn (canela) (Duraffourd)

Aceite esencial		Grado de sensibilidad		
Vol. (μ l)	[](mg)	Sensibilidad límite 9-14 mm (Sensible=+)	Sensibilidad media 15-19 mm (muy sensible=++)	Sumamente sensible 20mm a más (S.S.=+++)
0,25	0,21885	10,5		
0,30	0,26262	10,6		
0,35	0,30639	11,6		
0,40	0,35016	14,333		
0,45	0,39393		15,3	
0,50	0,4377		16	

Fuente: elaboración propia

En el cuadro N° 6 se observa el grado de sensibilidad de acuerdo a los promedios de los halos de inhibición según la escala de Duraffourd y Lapraz observando que con las primeras 4 concentraciones del aceite esencial se obtienen halos de inhibición con sensibilidad (+); mientras que con las 2 últimas concentraciones, debido a que los halos de inhibición son mayores, corresponden a la escala de “muy sensible” (++)). En consecuencia, *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 es muy sensible frente a las concentraciones de 0,39393 mg/ml y 0,4377mg/ml del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn (canela)

CUADRO N° 7.- Determinación del grado de sensibilidad de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 a diferentes concentraciones de Clorhexidina al 0,12% (Duraffourd)

Clorhexidina al 0,12%		Grado de sensibilidad			
Vol. (ul)	[] (mg/ml)	Sensibilidad nula ≤ 8mm	Sensibilidad límite 9-14 mm (Sensible +)	Sensibilidad media 15-19 mm (muy sensible ++)	Sumamente sensible 20 mm a más (S.S. +++)
5	0,006	8			
10	0,012	8			
15	0,018		10,6		
20	0,024		11,16		
25	0,030		11,33		
30	0,036		11,66		

Fuente: elaboración propia

En el cuadro N° 7 se puede observar que las 2 primeras concentraciones presentan sensibilidad nula a *Porphyromona gingivalis* mientras que las 4 últimas concentraciones alcanzan sólo a sensibilidad límite según la escala de Duraffourd y Lapraz.

CUADRO N° 8.-Determinación del grado de sensibilidad de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 a diferentes concentraciones de Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05%

Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05%		Grado de sensibilidad			
Vol. (μ l)	[](mg)	Sensibilidad nula ≤ 8 mm	Sensibilidad límite 9-14 mm (Sensible +)	Sensibilidad media 15-19 mm (muy sensible ++)	Sumamente sensible 20 mm a más (S.S. +++)
5	0,0025				
10	0,005				
15	0,0075				
20	0,01				
25	0,0125	6,6666			
30	0,015	7,3333			

Fuente: elaboración propia

En el cuadro N° 8 se puede observar que *Porphyromonas gingivalis* no es sensible a ninguna concentración de Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05% pues presentan sensibilidad nula según la escala de Duraffourd.

CUADRO N° 9.- Comparación de la Actividad antibacteriana del aceite de *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela) en comparación con Clorhexidina al 0,12% y Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05% (técnica antibiograma de Kirby Bauer)

Compuesto	Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05%	Clorhexidina al 0,12%	Aceite esencial de <i>Cinnamomun Zeylanicum Breyn</i> (canela) 100%
Volumen (ul)	30	30	0,50
Concentración(mg/ml)	0,015	0,036	0,4377
Halo de inhibición (mm)	7	11,66	16
Grado de Sensibilidad(Duraffourd y Lapraz)	nula	Sensible(+)	Muy sensible(++)

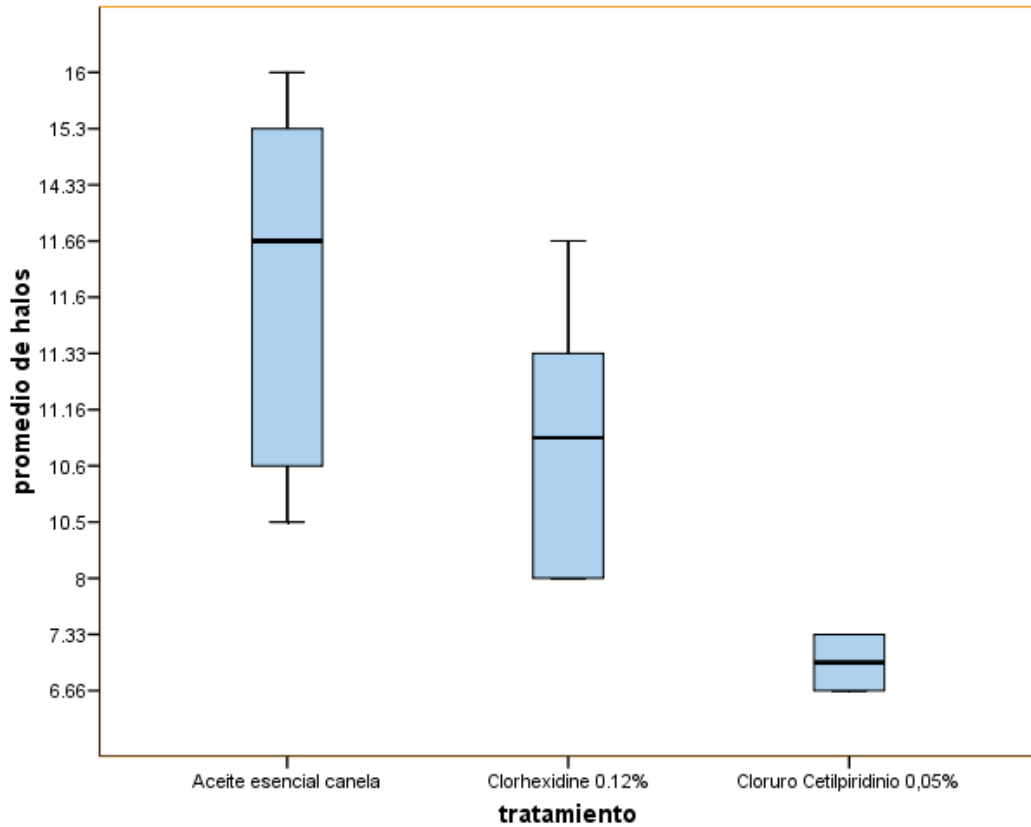
En el cuadro N° 9 se puede ver que Clorhexidina al 0,12% y Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05% no cumplen con los parámetros establecidos para la medición de sensibilidad ante el agente bacteriano *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, más sí lo hace *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela) con un halo de inhibición mayor que los otros 2 compuestos, demostrándose así que es “muy sensible”.

CUADRO N° 10.- Descripción estadística de los valores de las pruebas encontradas para el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn (canela), Clorhexidina al 0,12% y Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05%

Estadística descriptiva	Aceite esencial de C. Z. B. (canela)	Clorhexidina al 0,12%	Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05%
Media	13,055	10,1250	6,995
moda	10,5	8,00	6,7
Mediana	12,965	10,8800	6,995
Varianza	6,002	2,827	0,224
Desv. típ.	2.4499	1,68145	0,4738
Mínimo	10,5	8,00	6,7
Máximo	16,0	11,66	7,3

De acuerdo al cuadro mostrado se puede observar que para el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn (canela) el comportamiento de los halos de inhibición ha sido más homogéneo frente a los de Clorhexidina al 0,12% y Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05%.

GRAFICO N° 4.- Representación gráfica estadística de los valores de las pruebas encontradas para el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn (canela), Clorhexidina al 0,12% y Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05%



Según la caja de Tukey, nos muestra de acuerdo a los valores encontrados en la estadística descriptiva, que el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn (canela) ha tenido, por ser más homogéneo su comportamiento, una mejor acción antibacteriana que Clorhexidina al 0,12% y cloruro de Cetilpiridinio al 0,05%, siendo reflejado de acuerdo a los parámetros de grado de sensibilidad, mediante la lectura de los halos de inhibición.

CUADRO N° 11.- Prueba estadística T student para comparar la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn (canela) a través de la variación de promedios de halo de inhibición frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 entre las diferentes concentraciones o tratamientos empleados.

	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media	Diferencias relacionadas		t	GI	Sig. (bilateral)
				95% Intervalo de confianza para la diferencia				
				Superior	Inferior			
Par 1 ACEITE ESENCIAL – CLORHEXIDINA	2,93000	1,19549	0,48806	1,67541	4,18459	6,003	5	0,002

Se aplicó la prueba estadística T de student, por tratarse de variables cuantitativas, no se calculó la prueba para Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05%, ya que sus valores estaban fuera del rango de sensibilidad, por tanto, según los resultados obtenidos encontramos que, con un nivel de significancia del 95% y un margen de error menor a 0.05 (0.002) podemos concluir que existen diferencias entre el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn (canela) y Clorhexidina al 0,12%, siendo éstas estadísticamente significativas.

CUADRO N° 12.-Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn “canela” frente *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277

N° Tubo	[] Aceite esencial (mg/ml)	Turbidez
T1	0,35016	+
T2	0,357455	+
T3	0,36475	+
T4	0,372045	+
T5	0,37934	+
T6	0,386635	+
T7	0,39393	-
T8	0,401225	-
T9	0,40852	-
T10	0,415815	-
T11	0,42311	-
T12	0,430405	-
T13	0,4377	-
T14	-----	+
T15	-----	-

MIC

En el cuadro N°12, se observa que las concentraciones de 0,35016 mg/ml hasta 0,386635 mg/ml presentan turbidez (+), lo que indica la existencia del crecimiento bacteriano, sin embargo, a partir de las concentraciones 0,39393 mg/ml hasta 0,4377 mg/ml no presentaron turbidez (-), lo que evidencia que no hubo crecimiento bacteriano. En el tratamiento N° 7 cuya concentración es 0,39393 mg/ml se halló la CMI, ya que fue el primer tratamiento donde ya no hubo crecimiento bacteriano.

CUADRO N° 13.-Determinación de la Concentración mínima bactericida (CMB) del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn “canela” frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277

N° Tubo	[] (mg/ml)	UFC/Placa
T7	0,39393	3
T8	0,401225	2
T9	0,40852	1

CMB

En el cuadro N°13, se muestran sólo las concentraciones del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn (canela) donde no se evidenció turbidez a partir de la CMI para determinar la concentración mínima bactericida (CMB); observándose que en la concentración de 0,40852 mg/ml hay una inhibición del 99% del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, mientras que en las concentraciones 0,39393 mg/ml y 0,401225 mg/ml aún existe crecimiento de 3 y 2 UFC respectivamente.

CUADRO N° 14.- Resultados obtenidos de la Universidad Católica de Santa María Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnologías referente a la composición fitoquímica del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn (canela)

ANÁLISIS FISICOQUÍMICO	
ANÁLISIS	RESULTADO
<p>Determinación cualitativa de componentes volátiles</p> <p>Cromatografía Gaseosa con detección de masas(denominación NIST)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 2-propen-1-ol, 3phenyl-, acetate, (E) • Bicyclo (7.2.0) undec-4-ene-, 4, 11,11-trimethyl- • Cinnamaldehyde, (E)- • 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- •Bicyclo(3.1.0)hexane,4methylene-1-(1-meth) •phenol,2-methoxy-3-(2propenyl)-
<p>Determinación Cuantitativa componentes volátiles (%)</p> <p>Cromatografía Gaseosa con detección de masas, método de cuantificación, por normalización interna (área)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 2-propen-1-ol, 3phenyl-, acetate, (E)- (7,19%) • Bicyclo (7.2.0) undec-4-ene-, 4, 11,11-trimethyl- (4,06 %) • Cinnamaldehyde, (E)-(67,69%) • 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- (2,57%) • Bicyclo (3.1.0) hexane, 4-methylene-1-(1-meth) (3,58%) •Phenol,2-methoxy-3-(2propenyl)- (2,65%)

Fuente: UCSM-Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad-Arequipa

En el cuadro N°14 se muestra la composición fitoquímica del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela) obtenido por el método de cromatografía gaseosa con detección de masa en forma cualitativa y cuantitativa, se determinó que los componentes con mayor presencia son: 2-propen-1-ol, 3-phenyl-, acetate, (E)- (7,19%) ; Bicyclo (7.2.0) undec-4-ene-, 4, 11,11-trimethyl- (4,06 %);Cinnamaldehyde, (E)- (67,69%); 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- (2,57%); Bicyclo (3.1.0) hexane, 4-methylene-1-(1-meth) (3,58%); Phenol, 2-methoxy-3-(2-propenyl)- (2,65%)

CAPITULO VII:

DISCUSION

Actualmente, tanto en medicina general como en odontología, se están investigando nuevas alternativas naturales de tratamientos antibacterianos, dado el continuo aumento de la resistencia bacteriana a los antibióticos convencionales y por las reacciones adversas que éstos producen en algunos casos. Es así que hacemos hincapié a los productos orgánicos, de origen natural, que hoy en día conocemos y que la sabia naturaleza nos la ha brindado siempre, como son las plantas medicinales con sus principios activos.

Un aspecto que motivó a la investigación en este campo es la presencia en algunos casos, de reacciones adversas en el paciente por el uso de sustancias químicas para el tratamiento coadyuvante de la periodontitis crónica, se explica en parte por la administración prolongada de los tratamientos, como ocurre con el caso de la Clorhexidina que hasta hoy en día se la conoce como el Golden Estándar como colutorio en el tratamiento periodontal.

Es por ello que a nuestra consideración, el hallar un medicamento tan bueno o mejor en acción antibacteriana que los colutorios convencionales y más aún que sea de origen natural, orgánico, sin químicos, sin alcohol, que no tenga reacciones adversas, y que sobre todo sea de alcance económico a toda la población, resulta ser más efectivo y mejor para todos, sean para pacientes que lo usarían o profesionales de la salud odontológica que lo recomendarían.

Conociendo muchas de sus propiedades curativas y su aplicación en distintas áreas de manera artesanal o industrial de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn “canela”, fue una de las razones que nos motivó al estudio de su aceite esencial, para que ya no sea visto simplemente como un remedio casero sino que tenga sustento científico del por qué o cuales son las posibles razones de sus efectos antibacterianos.

El germen evaluado fue seleccionado por ser un microorganismo patógeno al ser humano, muy común en la enfermedad periodontal y difícil de erradicar. Las pruebas preliminares proporcionaron datos sobre la acción del aceite esencial de

Cinnamomum zeylanicum Breyn “canela”, observándose sensibilidad para *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277.

En lo referente a la acción antibacteriana de los compuestos de los aceites esenciales, es sabido que estos poseen notables propiedades antimicrobianas, sin embargo su mecanismo de acción aún no está definido. Diversos estudios determinan que los aceites procedentes de varias plantas medicinales entre ellos *Cinnamomum zeylanicum* Breyn “canela” poseen una gran actividad antibacteriana (Deans y Ritchie 1987).

Teniendo en cuenta los antecedentes encontrados en la literatura consultada y los resultados obtenidos, se pudiera atribuir la acción antibacteriana del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn “canela” a sus componentes terpenoides, fenólicos y aldehídos.

Uno de los principales mecanismos de acción propuestos para los terpenoides consiste en la disrupción de la membrana celular bacteriana mediante tres posibles vías: aumentando la permeabilidad de la membrana a iones pequeños, afectando la estabilidad estructural de la membrana y desestabilizando el empaquetamiento de la bicapa lipídica, cualquiera de estos efectos produce la muerte en la célula bacteriana.⁶⁰

Los compuestos fenólicos producen efectos a dos niveles, sobre la integridad de la pared celular y la membrana citoplasmática y sobre la respuesta fisiológica del microorganismo, sensibilizan a la membrana celular y cuando se saturan los sitios sobre los cuales actúan se produce un grave daño a la membrana citoplasmática.

Se pudo demostrar concretamente que derivados fenólicos tales como el Eugenol causan la desintegración de la membrana celular. El Eugenol y el Cinamaldehído actúan inhibiendo la producción de enzimas intracelulares, tales como amilasas y proteasas, lo que provoca el deterioro de la pared y un alto grado de lisis celular.⁶¹

Por todo ello, nos vimos en la necesidad de confirmar la presencia de ciertas sustancias específicas relacionadas con las propiedades que se le atribuyen a este aceite, para lo cual se utilizó la técnica de Cromatografía gaseosa.

De acuerdo al informe de ensayo N° ANA14D15.001652 que se realizó en la Universidad Católica de Santa María del Laboratorio de ensayo y Control de Calidad-Arequipa; por el método de cromatografía gaseosa con detección de masa se observó en forma cualitativa y cuantitativa la presencia de los siguientes compuestos: 2-propen-1-ol, 3phenyl-, acetate, (E)- (7,19%) ; Bicyclo (7.2.0) undec-4-ene-, 4, 11,11-trimethyl-(4,06 %); Cinnamaldehyde, (E)- (67,69%); 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- (2,57%); Bicyclo (3.1.0) hexane, 4-methylene-1-(1-meth) (3,58%); Phenol, 2-methoxy-3-(2-propenyl)-(2,65%). En este contexto, podemos decir que la actividad antibacteriana observada en esta investigación podría ser atribuida a una interacción o efecto sinérgico de todos estos principios activos.

Se demuestra así que el compuesto con mayor porcentaje es el Cinamaldeído en un 67,69%. La actividad biológica antibacteriana del aceite esencial de canela es atribuida principalmente al Aldehído Cinámico y al Eugenol (Baratta et al ,1998; Russo et al, 1998; Belitz et al 2004; Burt, 2004). El modo de acción antimicrobiana del aldehído cinámico fue estudiado en otras especies bacterianas (Wendakoon y Sacaguchi 1995) y radica en la unión del grupo carbonilo a las proteínas celulares, evitando así la acción de las enzimas amino-ácido-descarboxilasas. Estudios realizados por Thorosky (1989) referentes a la actividad antibacteriana del Eugenol, señalan la inhibición de producción de amilasas y proteasas así como el deterioro de la pared celular y una elevada ruptura celular.⁶²

En Nuestra investigación, según los resultados obtenidos, quedó demostrada la existencia de acción antibacteriana con el aceite estudiado. Se demostró además, que los tratamientos con los volúmenes y concentraciones del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Breyn* “canela” comparadas con los mismos volúmenes y concentraciones de Clorhexidina al 0,12% y CPC al 0,05% tienen una diferencia abismal puesto que no hicieron ningún efecto antibacteriano, por lo que se tuvo que aumentar los volúmenes y sus concentraciones para que ambos colutorios presenten actividad antibacteriana ante *Porphyromonas gingivalis* , siendo sólo Clorhexidina al 0,12% el que mostró dicha acción , pero con una

sensibilidad límite según la escala de Duraffourd y Lapraz, por lo que quedaría demostrado que *Cinnamomum zeylanicum Breyn* “canela” tiene una acción antibacteriana muy superior que Clorhexidina al 0,12% y CPC al 0,05%.

Marca Cuello, M. en su estudio evaluó la Actividad Antimicótica del aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum Breyn* “canela” frente a *Cándida albicans* ATCC 6538. Los resultados fueron que *Cándida albicans* presenta alta sensibilidad al aceite esencial. La CMI para *Cándida albicans* fue de 0,01895 mg/ml y la CMF fue de 0,020529166 mg/ml. En nuestro estudio, obtuvimos un MIC de 0,39393 mg/ml y un CMB de 0,40852 mg/ml; si bien es cierto que obtuvimos un MIC ligeramente mayor en comparación al de *Cándida albicans*, podemos decir que ambos microorganismos son totalmente distintos y esta distinción aplica también a la estructura de sus paredes celulares y sus componentes dentro de ellas, lo que quedaría reflejado que las paredes celulares del hongo son más sensibles ante el aceite esencial, lo que provocó su destrucción con concentraciones tan bajas a diferencia de *Porphyromonas gingivalis* que necesitó un poco más de concentración del aceite esencial para inhibir completamente su crecimiento.

Ramos Clemente W. demostró la actividad antibacteriana del extracto de *Erythroxylum* (coca) sobre *Porphyromonas gingivalis*. Los resultados del primer estudio indicaron que el extracto de *Erythroxylum* “coca” tiene sensibilidad nula (-) para la mayor parte de las concentraciones evaluadas, y sensibilidad límite (sensibilidad: +) para la máxima concentración del extracto (100 %) sobre el crecimiento de la bacteria. Los resultados del segundo estudio determinaron una concentración mínima del extracto, capaz de inhibir el crecimiento de dicha bacteria. Este valor fue 6.25 %, el cual representa la concentración mínima inhibitoria (CMI). En nuestro estudio, obtuvimos un MIC de 0,39393 lo que equivaldría a un 0,045%, quedaría demostrado así, que el aceite esencial de *Cinnamomum Zeylanicum Breyn* “canela” tiene mayor acción antibacteriana que el extracto de *Erythroxylum* “coca”.

Lagos la Rosa, E. investigó la actividad antibacteriana del aceite esencial *Thymus Vulgaris* L. “tomillo” frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 dando como resultado que *Porphyromonas gingivalis* es muy sensible al aceite esencial. La CMI para *Porphyromonas gingivalis* es 0,31 mg/ml y CMB es 0,37 mg/ml. Al comparar los resultados obtenidos con los nuestros, observamos diferencias en cuanto al MIC (0,39 mg/ml) y CMB (0,40 mg/ml), éstas diferencias en cuanto a la concentración podría deberse a la composición fitoquímica de cada planta con sus efectos sinérgicos de sus componentes, donde el Thymol y Carvacrol son los principios activos involucrados en la actividad antibacteriana de *Thymus Vulgaris*, principios activos que *Cinnamomum zeylanicum* Breyn no los tiene. Sin embargo la diferencia entre los CMI y los CMB de ambas plantas es muy ínfima, lo que nos indicaría que la pared bacteriana de esta bacteria anaerobia estricta es muy sensible a la acción de aceites esenciales a muy pequeñas concentraciones.

Fani M. y Kohanteb J, evaluaron la Actividad Inhibitoria del aceite esencial de *Cinnamomum Zeylanicum* y *Eucalyptus globulus* frente a *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* y *Cándida*. La conclusión fue que El MIC de canela y aceite de eucalipto osciló entre 12.8- 51.2 y / 64-256mg/ml siendo el aceite de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn el que mostró actividad inhibitoria más fuerte medida por la determinación del MIC. En nuestro estudio obtuvimos un MIC mucho menor (0,39393 mg/ml) lo que nos indicaría que nuestro aceite tuvo una alta pureza en su obtención y que probablemente las propiedades de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn difieren entre los lugares donde crece.

Kamal A., Radhika J., Chetan Sh. determinaron la actividad antimicrobiana de la corteza de *Cinnamomum zeylanicum* contra las bacterias *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus* y las levaduras *Cándida albicans* y *Saccharomyces cerevisiae*. Se llegó a la conclusión que el extracto Acetónico de la corteza de canela mostró una mayor actividad antimicrobiana que el resto de extractos, con un MIC de 12,5 mg / ml; en nuestro estudio obtuvimos un MIC mucho menor en comparación a este estudio (MIC 0,39393), pese a que se trató de la misma especie, podríamos deducir que los hábitats donde crecen las plantas no son

iguales, y también porque en este caso, se trata de un extracto acetónico, donde intervienen otros compuestos en su obtención y eso puede que haya provocado una falta de pureza en dicho aceite, muy por el contrario, nuestro aceite esencial se obtuvo mediante la técnica de arrastre de vapor, por lo que diríamos que su pureza fue mayor viéndose reflejado en el MIC y CMB.

En general, por todos los resultados mostrados, podemos decir que nuestro aceite esencial presenta una mejor acción antibacteriana frente a los otros compuestos experimentados y frente a los otros aceites esenciales citados en líneas arriba, no sólo contra *Porphyromonas gingivalis*, sino contra otras bacterias y hongos.

CONCLUSIONES

- El aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela) presenta acción antibacteriana in vitro frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277.
- El grado de sensibilidad de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 frente al aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela) es “muy sensible” a concentraciones de 0,39393 mg/ml y 0,4377 mg/ml.
- La concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela) para *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 fue de 0,39393 mg/ml.
- La concentración mínima bactericida (CMB) del aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela) para *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 fue de 0,40852 mg/ml.
- El aceite esencial de *Cinnamomum Zeylanicum Breyn* (canela) presenta mayor acción antibacteriana que Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05% frente a *Porphyromonas Gingivalis* ATCC 33277.
- El aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela) presenta mayor acción antibacteriana que Clorhexidina al 0,12% frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277.
- Mediante el estudio fitoquímico de cromatografía de gases con detección de masas realizado al aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela) se verificó que el compuesto de Cinamaldehído está presente en un 67,69%, siendo éste el más prevalente de entre los demás compuestos.

RECOMENDACIONES

- Se sugiere valorar la acción antibacteriana del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela) para realizar otros estudios in vitro frente a bacterias aerobias y anaerobias de interés odontológico.
- Se sugiere enfocar los estudios en la efectividad antibacteriana y toxicidad que pueden proporcionar los componentes activos de *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela) como también poder determinar sus dosis terapéuticas.
- Se sugiere elaborar diferentes formas farmacéuticas de acuerdo a la vía de administración utilizando el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela) para realizar ensayos clínicos.
- Se sugiere la realización de estudios complementarios del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Breyn* (canela) para poder aplicarlos en la clínica docente odontológica de La UPT, sea como colutorio o irrigante en la especialidad de Periodoncia.
- Se sugiere implementar los laboratorios de la Facultad de Ciencias de la salud para la realización de futuras investigaciones in vitro.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. MANUAL DE PREVENCIÓN Y PROMOCIÓN DE LA SALUD BUCAL. MINISTERIO DE SALUD.2012.
2. SOCIEDAD ESPAÑOLA DE PERIODONCIA Y OSTEOINTEGRACIÓN. Manual de Higiene Bucal. 2009. Pág. 46.
3. MARCA CUELLO, M. (2013) Actividad Antimicótica “in vitro” del aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum Breyn* “canela” frente a *Cándida albicans* ATCC 6538.Tesis UNJBG.
4. RAMOS CLEMENTE W. (2012) Actividad antibacteriana del extracto de *Erythroxylum coca* sobre *Porphyromonas gingivalis*, estudio in vitro. Tesis UNMSM.
5. LAGOS LA ROSA, E. (2012) Actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial *Thymus Vulgaris l.* “tomillo” frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 causante de gingivitis. Tesis.
6. FANI M., KOHANTEB J.(2011) Actividad Inhibitoria del aceite esencial de *Cinnamomun zeylanicum* y *Eucalyptus globulus* frente a especies aisladas de pacientes con infecciones orales de *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus áureus* y *cándida*. *ShirazUnivDent J 2011; Vol.11, Supplement*. Departamento de microbiología médica, Universidad de ciencias médicas.Shiraz. Irán.
7. KAMAL A., RADHIKA J., CHETAN SH. (2009) Actividad antimicrobiana de la corteza de *Cinnamomum zeylanicum*. Departamento de Microbiología de la universidad de kurukshehra. India.
8. LINDHE J. Periodontología clínica e Implantología odontológica. 4ta ed. Buenos Aires. Médica Panamericana. 2005.
9. ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD, 2007. volumen I–regional Publicación Científica y Técnica No. 622. Washington, D.C. 2003 7, E.U.A. 2007.148 p.
10. SIGMUND S. SOCRANSKY Y ANNE D. HAFFAJEE Biofilms dentales: objetivos terapéuticos difíciles. *Periodontology 2000 (Ed Esp)*, Vol. 3, 2003, 12-55
11. DR. CALLE QUISPE, M. Directiva Intersectorial No 001 – 89 Salud – Educación. “Programa Nacional de Salud Bucal dirigida a la comunidad educativa” Dirección General de Salud de las Personas.http://www.minsa.gob.pe/portada/est_san/saludbucal.htm
12. MARÍA FERRO, MAURICIO GOMEZ GUZMAN CAMARGO. Periodoncia: Fundamentos de la Odontología. Pontificia Universidad Javeriana. Segunda edición pág. 61 México 2008.
13. CARRANZA-NEWMAN. Periodontología clínica. Octava edición pág. 90

14. LISTGARTEN MA, SLOTS J, ROSENBERG J, NITKIN L, SULLIVAN P, OLER J. Clinical and microbiological characteristics of treated periodontitis patients on main tenance care. *J Periodontol.* 1989 Aug;60 (8):452-9
15. ESCRIBANO M, MATESANZ P, BASCONES A. Pasado, presente y futuro de la microbiología de la periodontitis. *Av Periodon Implantol.* 2005; 17, 2: 79-87.
16. BENNICK A, CANNON M. Quantitative study of interactions of salivary acidicproline-richproteins with hydroxyapatite. *Caries Res* 1978; 12: 159-169.
17. MAYHALL CW. Amino acid composition of experimental salivary pellicles. *J Periodontol* 1977; 48: 78-91.
18. YAO Y, GROGAN J, ZENHDER M , LENDEUMANN U, NAM B, WU Z, COSTELLO CE, OPPENHEIM FG. Composition alanalysis of human acquired name pelliclebymas sspectrometry. *Arch Oral Biol* 2001;46: 293-303.
19. CARRANZA, F.; NEWMAN, M. *Periodontología Clínica.* 8va. Edición. 1997.Ediciones Mc Graw- Hill Interamericana. México.
20. LAMKIN M S, ARANCILLO AA, OPPENHEIM FG. Temporal and compositional characteristics of the salivary proteina adsorption to hydroxyapatite. *J Dent Res* 1996; 75: 803-808.
21. SONJU T, RYKKE M. Formation of acquired pellicle in vivo. *Acta Odontol Scand* 1995;54:227-232.
22. KUBOKI Y, TERAOKA K. OKADA S. X-rayphotoelectron spectroscopic studies of the adsorption of salivary constituents on enamel. *J Dent Res* 1987;66: 1016-1019.
23. LINDHE J. *Periodontología clínica e Implantología odontológica.* 4ta ed. Buenos Aires. Médica Panamericana. 2005.
24. SIGMUND S. SOCRANSKY Y ANNE D. HAFFAJEE *Biofilms dentales:objetivos terapéuticos difíciles.* *Periodontology* 2000 (Ed Esp), Vol. 3, 2003, 12-55
25. DRA. MORENO, S; DR. CONTRERAS, A. Factores de Virulencia de *Porphyromonas Gingivalis.* FUNDACIÓN JUAN JOSÉ CARRARO | N° 37 | MARZO - ABRIL 2013
26. DONALD RAMOS PERFECTO, HILDA MOROMI NAKATA1, ELBA, MARTÍNEZ CADILLO. *Porphyromonas Gingivalis: patógeno predominante en la periodontitis crónica.* *Odontol. Sanmarquina* 2011; 14(1): 34-38
27. DEL RIO MARTÍNEZ, P.G. Tesis: Actividad Biocida de un Propólis Chileno frente a *Porphyromona Gingivalis.* Estudio in Vitro. Santiago de Chile. 2006.

28. DRA. MORENO, S; DR. CONTRERAS, A. Factores de Virulencia de Porphyromonas Gingivalis. FUNDACIÓN JUAN JOSÉ CARRARO | N° 37 | MARZO - ABRIL 2013.
29. DONALD RAMOS PERFECTO, HILDA MOROMI NAKATA¹, ELBA, MARTÍNEZ CADILLO. *Porphyromonas gingivalis*: patógeno predominante en la periodontitis crónica. Odontol. Sanmarquina 2011; 14(1): 34-38
30. BASCONES A, MORANTE S .Antisépticos orales. Revisión de la literatura y perspectiva actual. Av Periodon Implantol. 2006; 18, 1: 31-59.
31. OLATE S, SOTO M. Antimicrobianos locales en periodoncia: revisión literaria, Acta OdontVenezol 2007; 44 (3): 6-10.
32. BASCONES MARTÍNEZ A, MUDARRA MORANTE S, PEREA PÉREZ E. Antisépticos en el tratamiento de la enfermedad periodontal. Av Periodon Implantol. 2002; 14,3: 101-114.
33. SIMABUKURO V.F.Y COLS. Estudio de la Capacidad antimicrobiana del Cloruro de Cetilpiridinio sobre microflora existente en los cepillos dentales en uso en preescolares con dentición decidua completa. Científica 8(2), 2008. Colombia.
34. JOSÉ JORGE SERRANO GRANGER. Tesis doctoral: Efectos de un colutorio con Clorhexidina al 0.05 % y cloruro de Cetilpiridinio al 0.05 % en pacientes en mantenimiento periodontal. Universidad Complutense de Madrid.2006
35. M. NAVERAC AZNAR, P. DE GRADO CABANILLES,F. GIL LOSCOS. Uso de colutorios en la clínica periodontal. PERIODONCIA Y OSTEointegración Volumen 17 Número 1 Enero-Marzo 2007
36. SÁNCHEZ L. SALDAÑA, SÁENZ A.ANTISÉPTICOS Y DESINFECTANTES. Dermatología Peruana 2005; Vol 15: No 2
37. BASCONES A, MORANTE S. Antisépticos orales. Revisión de la literatura y perspectiva actual. Av Periodon Implantol. 2006; 18, 1: 31-59
38. HERRERA GONZÁLEZ D., ROLDÁN DÍAZ S., SANTACRUZ ASTORQUI I, O'CONNOR A., SANZ ALONSO M. Actividad antimicrobiana en saliva de cuatro colutorios con Clorhexidina.
39. DRA. DE LA C. TORRES LÓPEZMILEYDI, DR. DÍAZ ÁLVAREZMARCIAL, DRA. ACOSTA MORALES ALINA. La Clorhexidina, bases estructurales y aplicaciones en la estomatología Gaceta Médica Espirituana 2009.
40. MORANTE MUDARRA, S. Tesis Doctoral: 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 neo formación de placa supra gingival. Madrid 2003.

41. STEVENS, P.F. Y COL.. Plantas medicinales y aromáticas. II segundo congreso internacional de plantas medicinales y aromáticas.2002.
42. CALIXTO COTOS, MARIA. Plantas medicinales usadas en odontología. UNMSM. artículo de revisión 2008
43. CANO C. . Tesis: Actividad antimicótica in vitro y elucidación estructural del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña). UNMSM. Lima, 2007
44. BANDONI, A.. Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica, su aprovechamiento Industrial para la producción de aromas y sabores. Edit. UNLP-CYTED. Bs. As.2000
45. EDUARDO VALAREZO. Aceites esenciales: generalidades, extracción, caracterización y usos. Instituto de Química aplicada. Universidad Técnica particular de Loja- Ecuador.2005
46. MARAVÍ INGA, GISELLA. Tesis “EFECTO ANTIBACTERIANO Y ANTIFÚNGICO DEL ACEITE ESENCIAL DE: *Mentha piperita* (MENTA), *Origanum vulgare* (ORÉGANO) y *Cymbopogon citratus* (HIERBA LUISA) SOBRE *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 10746 y *Cándida albicans* ATCC 90028”
47. ZEKARIA, DAN (2006). Los aceites esenciales una alternativa a los antimicrobianos. Laboratorios Calier
48. MARTÍNEZ, M.(2003). Aceites esenciales. Facultad Química Farmacéutica. Medellín.
49. MANRIQUE, G. (2001). Determinación de los Parámetros para la Desterpenación y Desmentolado del aceite esencial de muña *Satureja boliviana* y su utilización como conservante en la elaboración de chorizo. Tesis. Arequipa
50. VAN GINKEL, A. (2003). Apuntes del Máster y Diplomatura de posgrado de la UAB “Plantas Medicinales y Fitoterapia. Módulo 2. Cultivo de plantas medicinales. Tecnología y Producción.”
51. BRUNENTON, J.(1991). Elementos de Fotoquímica y Farmacognosia. Editorial Acriba. España
52. VILLAR DE FRESNO, A.M.(1999). Farmacognosia General. Editorial Síntesis. España.
53. GENNARO A. (2003). Remington Farmacia. 20ava Edición. Argentina. Editorial medica panamericana
54. MOURA MENDES, JULIANA y COL. (2011), “Actividad antifúngica del aceite esencial de *Eugenia caryophyllata* sobre cepas de *Cándida tropicalis* de aislados clínicos”. Universidad Federal de Paraíba. Brasil.
55. SÁNCHEZ O. S. (1980) Flora del valle de México. Tomo I. Cuarta edición. Editorial Herrera.

56. KUKLINSKI CLAUDIA (2003), Farmacognosia “Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural”-Ediciones Omega.
57. LEHMAN (1998). PF: Fungal structure and morphology. In Ajello L, Hay RJ, vol 4, editors: Topley and Wilsons Microbiology and microbial diseases, Medical mycology. London.
58. FONNEGRA G., RAMIRO Y JIMÉNEZ R. SILVIA (2006) “Plantas Medicinales aprobadas en Colombia” -2da Edición , Editorial Universidad de Antioquia.
59. GOMEZ SANCHEZ A. I. Y LOPEZ MALO A. (2009) “Potencial antimicrobiano de los aceites de Orégano (*Origanum vulgare*) y canela (*Cinnamomum zeylanicum*)”. Departamento de Ingeniería química y alimentos. Universidad de las Américas Puebla. México.
60. Duraffourd C, Dhervocourt L., Lapraz JC.. Cuadernos de Fitoterapia Clínica. 1ra edición. Barcelona, España:Edit Masson S.A. 1986.
61. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA PRUEBA DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA POR EL MÉTODO DE DISCO DIFUSIÓN. Serie de Normas Técnicas N° 30, pág. N° 11.Lima - 2002
62. Griffin S. Aspects of Antimicrobial Activity of Terpenoides and the Relationship to their Molecular Structure.Physic Bulletin.1979;30:262
63. Nyshas GJE. Natural antimicrobials from plants.New Methods of food Preservation.Champman and Hall.London.1995;4:59-89

ANEXOS

ANEXO FOTO N° 1: *Cinnamomum Zeylanicum* Breyn (canela)



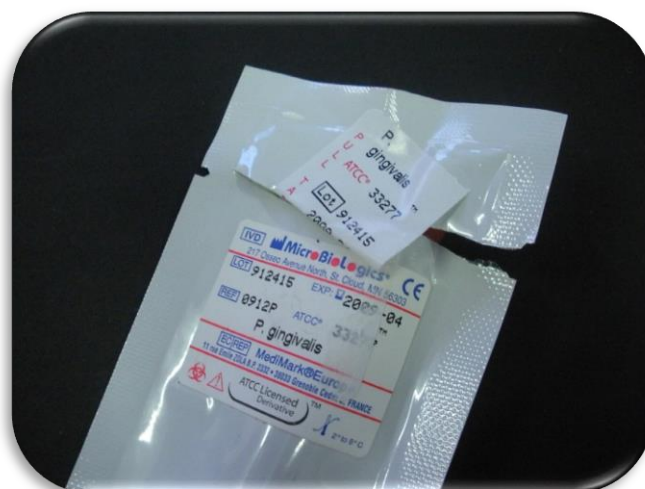
ANEXO FOTO N° 2: Obtención del aceite esencial de *Cinnamomum Zeylanicum Breyn* (canela) por el método de destilación por arrastre de vapor



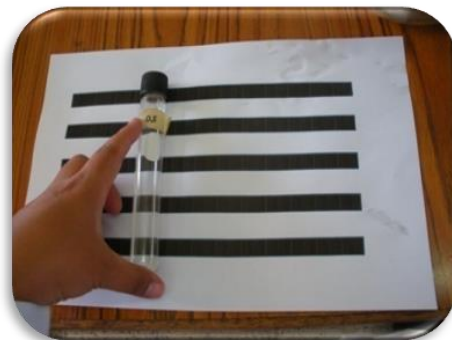
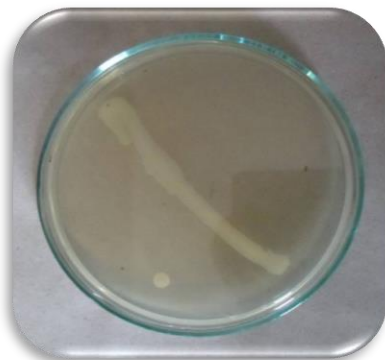
ANEXO FOTO N° 3: Clorhexidina al 0,12% y cloruro de Cetilpiridinio al 0,05%



ANEXO FOTO N° 4: Cepa de bacteria en estudio *Porphyromonas Gingivalis* ATCC 33277



**ANEXO FOTO N° 5: Activación y crecimiento de bacteria en estudio
Porphyromonas Gingivalis ATCC 33277 en medio Agar.**



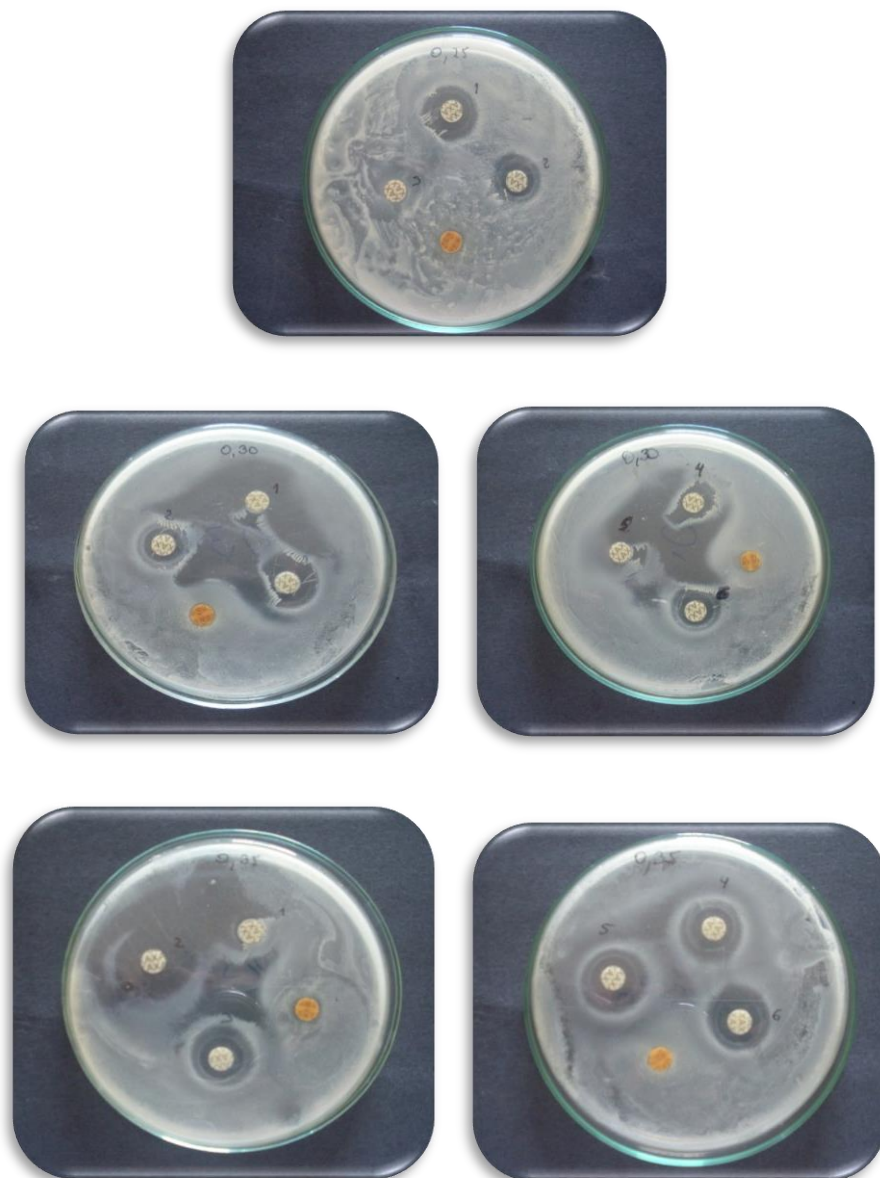
ANEXO FOTO N° 6: Preparación de los discos de sensibilidad:

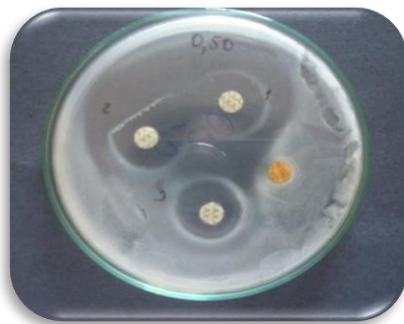
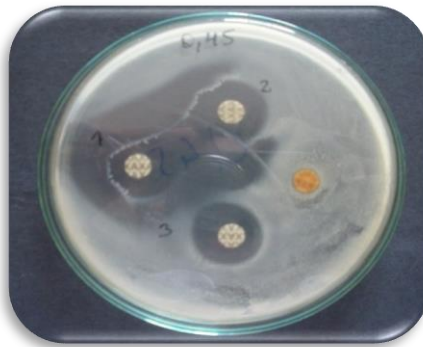


ANEXO FOTO N°7: Preparación para la prueba de Sensibilidad



ANEXO FOTO N° 8: Susceptibilidad de *Porphyromonas Gingivalis* ATCC 33277 al aceite esencial de *Cinnamomum Zeylanicum* Breyn (canela).



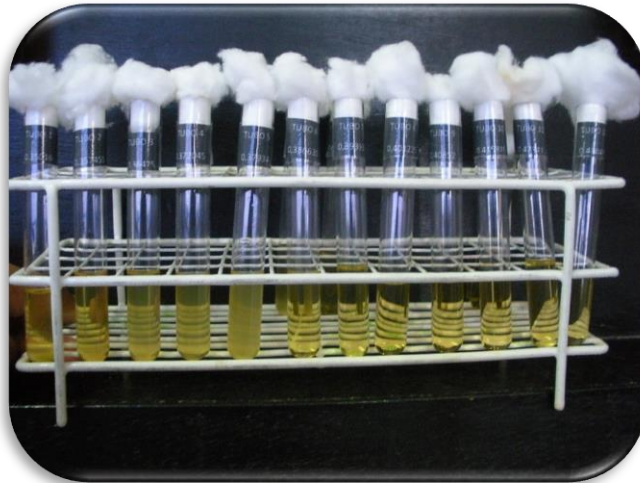
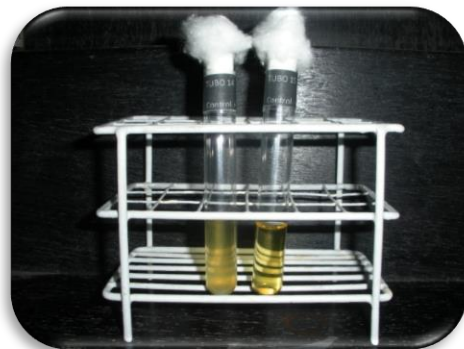
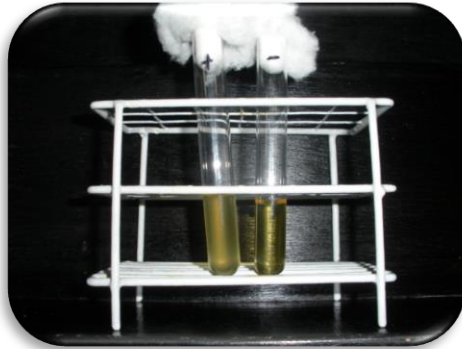


**ANEXO FOTO N° 9: Concentración Mínima Inhibitoria de *Porphyromonas*
Gingivalis ATCC 33277**



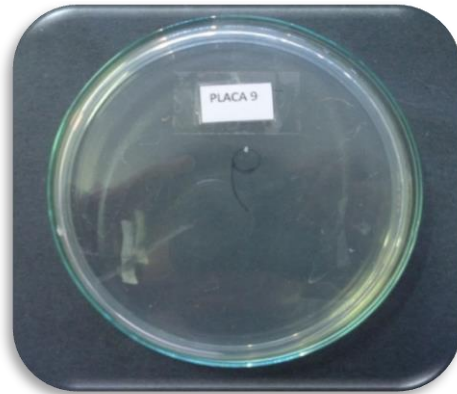
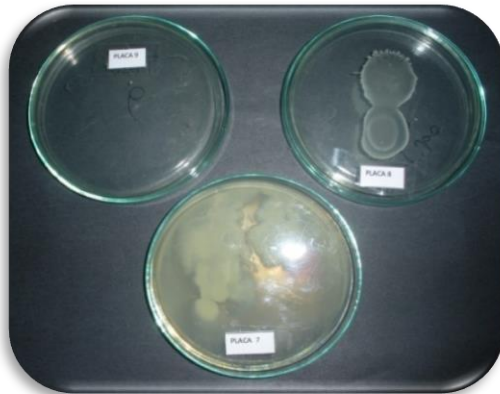


ANEXO FOTO N°10: Lectura de la concentracion mínima inhibitoria para *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277



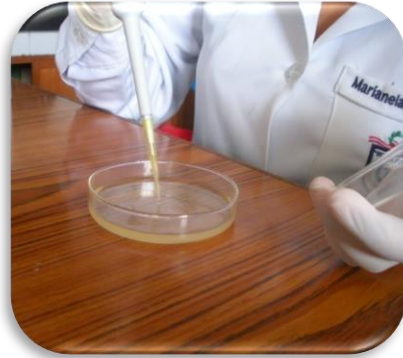
TUBO N° 7:
CMI= 0,39393mg/ml

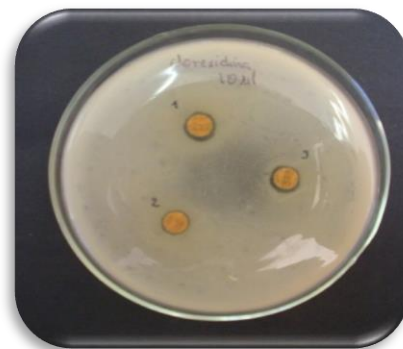
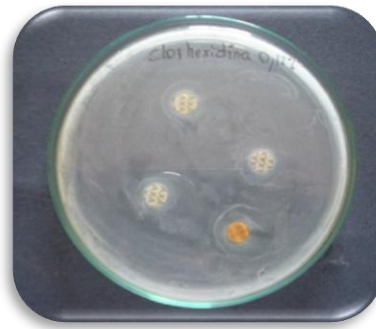
ANEXO FOTO N° 11: Concentración mínima Bactericida de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277

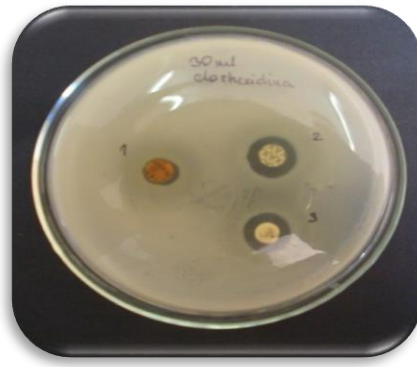


CMB = 0,40852

ANEXO FOTO N°12 Evaluación de la acción antibacteriana de Clorhexidina al 0,12% frente a *Porphyromonas Gingivalis* ATCC33277

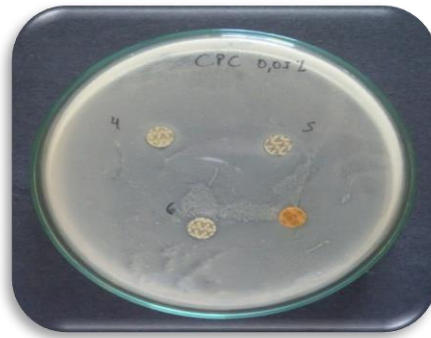
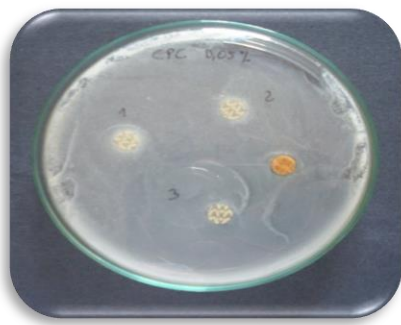


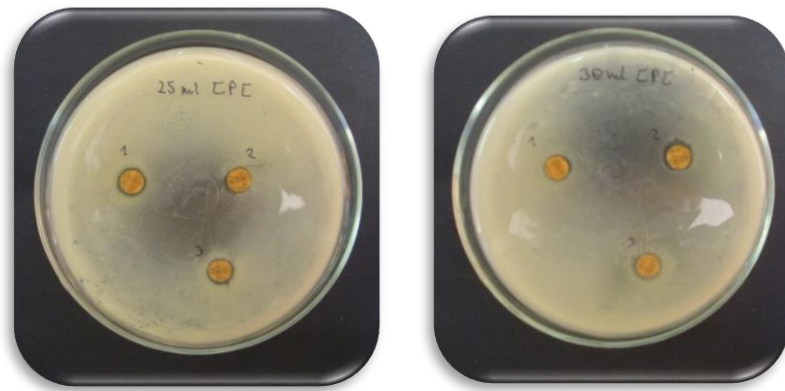




ANEXO FOTO N° 13 Evaluación de la acción antibacteriana de Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05%









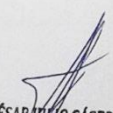
Universidad Nacional "Jorge Basadre Grohmann" - Tacna
FACULTAD DE CIENCIAS

Escuela Académico Profesional de: Biología-Microbiología y Física Aplicada

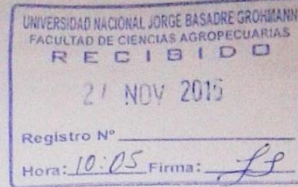


CONSTANCIA

Por medio de la presente dejamos constancia que la Srta. Marianela Ynés Carpio Limachi, identificado con DNI N° 41442064, ha realizado la parte experimental de su tesis titulada: "Acción antibacteriana del aceite esencial de *Cinnamomum Zeylanicum Breyn* (canela) frente a *Porphyromonas Gingivalis*, en comparación con Cloruro de Cetilpiridinio al 0,05% y Clorhexidina al 0,12% estudio in vitro" en las instalaciones de la Facultad de Ciencias, en el laboratorio de Microbiología General de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann de Tacna, durante los meses de abril y Mayo del 2015.


Dr. CÉSAR JULIO CÁCEDA QUIROZ
Jefe De Laboratorio De Microbiología
FACI - UNJBG

Ciudad Universitaria Av. Miraflores s/n
Apartado 316 Teléfono:052-583000 Anexo: 2102 - Fax: 2101



Oficio N° 003-2015-RZZ/ESAG

Tacna, 23 de noviembre del 2015

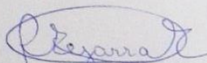
Señor
MSC. Magno Robles Tello
Decano de la Facultad de Ciencias Agropecuarias
Presente.-


De mi consideración

Tengo el agrado de dirigirme a usted para manifestarle con relación a la solicitud de la Srta. Bach. Marianela Ynés Carpio Limachi, de la Escuela Académico Profesional de Odontología, sobre la identificación y certificación de especie botánica. Al respecto le informo que se procedido a identificar la muestra recibida y debo señalar que se trata de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn "Canela".

Sin más que informar al respecto, le saludo cordialmente.

Atentamente,


Dra. Rosario Zegarra Zegarra
Profesora Principal FCAG

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS		UNJBG
PROV N°:	2936	FECHA:
A :	interesado	
PARA :	conocimiento	
		



UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS, BIOQUIMICAS Y BIOTECNOLOGICAS
LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD



Urb. San José S/N Umacollo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204/205 ☎ + 51 54 251210 ANEXO 1166
 ✉ laboratoriodeensayo@ucsm.edu.pe 🌐 http://www.ucsm.edu.pe 📄 Apto. 1350
 AREQUIPA - PERU

INFORME DE ENSAYO
Nº DE INFORME: ANA14D15.001652

Nombre del Cliente : MARIANELA CARPIO LIMACHI
Dirección del Cliente : Leoncio Prado Calle Santa Rosa De Lima 1740-TACNA
RUC : NO CORRESPONDE
Condición del Muestreado : POR EL CLIENTE
Descripción : ACEITE ESENCIAL DE CANELA
Tamaño de muestra : 4 mL
Fecha de Recepción : 14/04/2015
Fecha de Ejecución del ensayo : 14/04/2015
Fecha de Emisión de Informe : 21/04/2015
Página : 1 de 2

I. ANALISIS FISICO – QUIMICO:

ANÁLISIS	RESULTADO																																												
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE COMPONENTES VOLATILES CROMATOGRAFÍA GASEOSA CON DETECCIÓN DE MASAS (DENOMINACION NIST)	<p align="center">NOMBRE NIST</p> Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl-, (+ Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-methyl 1,3-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methyleth Benzene, 1-methyl-2-(1-methylethyl)- Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-meth 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- Benzenepropanal 3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl 3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha.,.alpha.,4-tr Cinnamaldehyde, (E)- Phenol, 2-methoxy-3-(2-propenyl)- Copaene Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl- Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl- 2-Propen-1-ol, 3-phenyl-, acetate, (E)- .alpha.-Caryophyllene 2-Propenal, 3-(2-methoxyphenyl)- 2-Methyl-Z,Z-3,13-octadecadienol 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15, 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15, Benzyl Benzoate																																												
DETERMINACIÓN CUANTITATIVA COMPONENTES VOLATILES (%) CROMATOGRAFÍA GASEOSA CON DETECCIÓN DE MASAS, MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN, POR NORMALIZACIÓN INTERNA (ÁREA)	<p align="center">NOMBRE</p> <table border="0"> <thead> <tr> <th></th> <th align="right">%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl-, (+</td><td align="right">0,54</td></tr> <tr><td>Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-methyl</td><td align="right">1,16</td></tr> <tr><td>1,3-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methyleth</td><td align="right">0,88</td></tr> <tr><td>Benzene, 1-methyl-2-(1-methylethyl)-</td><td align="right">1,06</td></tr> <tr><td>Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-meth</td><td align="right">3,58</td></tr> <tr><td>1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-</td><td align="right">2,57</td></tr> <tr><td>Benzenepropanal</td><td align="right">0,37</td></tr> <tr><td>3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl</td><td align="right">0,85</td></tr> <tr><td>3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha.,.alpha.,4-tr</td><td align="right">0,77</td></tr> <tr><td>Cinnamaldehyde, (E)-</td><td align="right">67,69</td></tr> <tr><td>Phenol, 2-methoxy-3-(2-propenyl)-</td><td align="right">2,65</td></tr> <tr><td>Copaene</td><td align="right">0,47</td></tr> <tr><td>Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-</td><td align="right">0,85</td></tr> <tr><td>Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-</td><td align="right">4,06</td></tr> <tr><td>2-Propen-1-ol, 3-phenyl-, acetate, (E)-</td><td align="right">7,19</td></tr> <tr><td>.alpha.-Caryophyllene</td><td align="right">0,91</td></tr> <tr><td>2-Propenal, 3-(2-methoxyphenyl)-</td><td align="right">0,66</td></tr> <tr><td>2-Methyl-Z,Z-3,13-octadecadienol</td><td align="right">0,5</td></tr> <tr><td>2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,</td><td align="right">0,78</td></tr> <tr><td>2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,</td><td align="right">1,12</td></tr> <tr><td>Benzyl Benzoate</td><td align="right">1,34</td></tr> </tbody> </table>		%	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl-, (+	0,54	Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-methyl	1,16	1,3-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methyleth	0,88	Benzene, 1-methyl-2-(1-methylethyl)-	1,06	Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-meth	3,58	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	2,57	Benzenepropanal	0,37	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl	0,85	3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha.,.alpha.,4-tr	0,77	Cinnamaldehyde, (E)-	67,69	Phenol, 2-methoxy-3-(2-propenyl)-	2,65	Copaene	0,47	Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-	0,85	Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-	4,06	2-Propen-1-ol, 3-phenyl-, acetate, (E)-	7,19	.alpha.-Caryophyllene	0,91	2-Propenal, 3-(2-methoxyphenyl)-	0,66	2-Methyl-Z,Z-3,13-octadecadienol	0,5	2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,	0,78	2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,	1,12	Benzyl Benzoate	1,34
	%																																												
Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl-, (+	0,54																																												
Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-methyl	1,16																																												
1,3-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methyleth	0,88																																												
Benzene, 1-methyl-2-(1-methylethyl)-	1,06																																												
Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-meth	3,58																																												
1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	2,57																																												
Benzenepropanal	0,37																																												
3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl	0,85																																												
3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha.,.alpha.,4-tr	0,77																																												
Cinnamaldehyde, (E)-	67,69																																												
Phenol, 2-methoxy-3-(2-propenyl)-	2,65																																												
Copaene	0,47																																												
Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-	0,85																																												
Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-	4,06																																												
2-Propen-1-ol, 3-phenyl-, acetate, (E)-	7,19																																												
.alpha.-Caryophyllene	0,91																																												
2-Propenal, 3-(2-methoxyphenyl)-	0,66																																												
2-Methyl-Z,Z-3,13-octadecadienol	0,5																																												
2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,	0,78																																												
2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,	1,12																																												
Benzyl Benzoate	1,34																																												



Los resultados emitidos en el presente informe se relacionan únicamente a las muestras ensayadas. Este documento no debe ser reproducido, sin autorización escrita del Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad



UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS, BIOQUIMICAS Y BIOTECNOLOGICAS
LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD

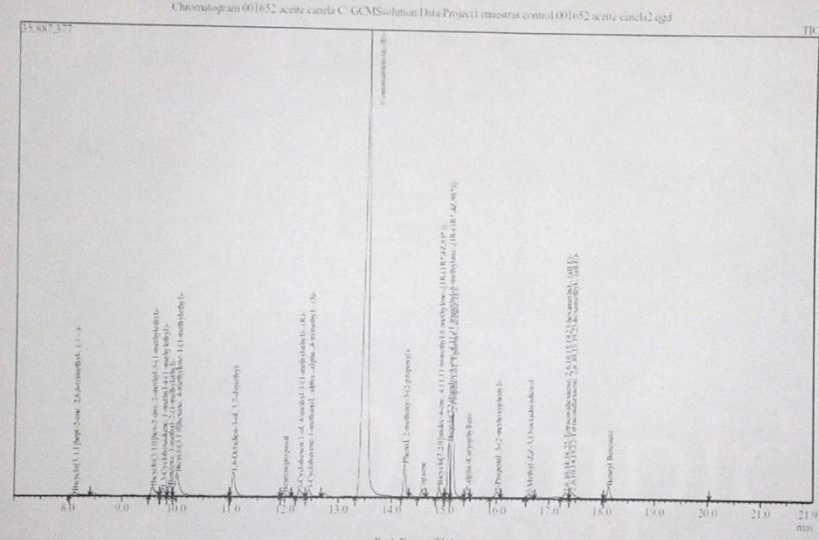


Urb. San José S/N Umacollo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204/205 ☎ + 51 54 251210 ANEXO 1166
 ✉ laboratoriodeensayo@ucsm.edu.pe 🌐 http://www.ucsm.edu.pe 📄 Apto. 1350
 AREQUIPA - PERU

INFORME DE ENSAYO
Nº DE INFORME: ANA14D15.001652

Nombre del Cliente : MARIANELA CARPIO LIMACHI
Dirección del Cliente : Leoncio Prado Calle Santa Rosa De Lima 1740-TACNA
RUC : NO CORRESPONDE
Condición del Muestreado : POR EL CLIENTE
Descripción : ACEITE ESENCIAL DE CANELA
Tamaño de muestra : 4 mL
Fecha de Recepción : 14/04/2015
Fecha de Ejecución del ensayo : 14/04/2015
Fecha de Emisión de Informe : 21/04/2015
Página : 2 de 2

II. CROMATOGRAMA



Peak#	R Time	I Time	F Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Mark	Name
1	8.120	8.030	8.415	1645473	0.54	265881	0.43	6.19	V	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl-, (+)-
2	9.555	9.490	9.690	3527185	1.16	696095	1.13	5.07	V	Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5α-(1-methyl-1,3-cyclohexadiene, 1-methyl-4-α-(1-methyl)ethyl)
3	9.744	9.690	9.825	2672733	0.88	590721	0.97	4.48	V	Benzocyclohexane, 1-methyl-4-α-(1-methyl)ethyl-
4	9.877	9.825	9.930	3231465	1.06	793492	1.29	4.07	V	Benzocyclohexane, 1-methyl-2-α-(1-methyl)ethyl-
5	10.007	9.930	10.980	10872721	3.58	1739901	2.83	6.25	SV	Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methyl-5-α-(1-methyl-1,6-octadiene-3-yl, 3,7-dimethyl)-
6	11.045	10.980	11.915	7817935	2.57	1837963	2.99	4.25	SV	1,6-Octadiene-3-ol, 3,7-dimethyl-
7	11.985	11.915	12.125	1138698	0.37	261210	0.43	4.36	V	Benzene, propenyl-
8	12.271	12.200	12.390	3751045	0.55	553402	0.90	4.63	V	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-α-(1-methyl)ethyl-
9	12.449	12.390	12.680	2349880	0.77	546881	0.89	4.30	SV	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-, alpha, alpha, 4-trimethylidene-, (1E)-
10	13.523	13.315	15.005	205873996	67.60	35814396	58.38	8.75	S	Gamma-delta-lactone, (1E)-
11	14.252	14.180	14.335	8073102	2.65	2490989	4.06	3.24	TV	Phenol, 2-methoxy-3-(2-propenyl)-
12	14.576	14.490	14.660	1429229	0.47	465913	0.76	3.07	TV	Cyclopentane
13	14.905	14.835	15.005	2597337	0.85	890748	1.45	2.92	T	Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-
14	15.084	15.005	15.118	1231834	4.06	4232350	6.90	2.02	V	Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-
15	15.155	15.115	15.380	2187043	7.19	6592088	10.74	7.32	SV	2-Propen-1-ol, 3-phenyl-, acetate, (E)-
16	15.436	15.380	15.495	2780246	0.91	871038	1.42	3.19	V	alpha-Caryophyllene
17	16.065	15.875	16.080	2001541	0.66	467750	0.76	4.28	V	2-Propenyl, 3-α-(2-methoxy)phenyl-
18	16.612	16.555	16.725	1505659	0.50	329315	0.54	4.57	V	2-Methyl-Z,Z-3,13-oxoheptadecanal
19	17.316	17.215	17.380	2367237	0.78	430635	0.70	5.80	V	2,6,10,14,18,22-Tetracosabenzene, 2,6,10,15,
20	17.430	17.380	18.035	3407388	1.12	536927	0.88	6.31	SV	2,6,10,14,18,22-Tetracosabenzene, 2,6,10,15,
21	18.134	18.035	20.030	4690980	1.54	938116	1.53	4.33	SV	Benzyl Benzoate
				304151077	100.00	61376813	100.00			

OBSERVACIONES:

Este documento al ser emitido sin el simbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INDECOPI-SNA

Q.F. Ricardo A. Abril Ramirez
 COFEPA 00624

Los resultados emitidos en el presente informe no se responsabilizan únicamente a las muestras ensayadas. Este documento no debe ser reproducido, sin autorización escrita del Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad