



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA

TESIS

ESTUDIO COMPARATIVO DEL EFECTO INHIBITORIO DEL
ACEITE ESENCIAL DE ORIGANUM VULGARE AL 100% Y
CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE CEPAS DE
PORPHYROMONAS GINGIVALIS. ESTUDIO IN VITRO.
AREQUIPA - 2018

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE CIRUJANO DENTISTA

PRESENTADO POR:
BACHILLER NAIDA EVELYN HUMARI CASTILLO

ASESOR:
DRA. SOLANGE ANA MEZA ZEGARRA

AREQUIPA, PERÚ
OCTUBRE 2018

DEDICATORIA

Dedico este trabajo principalmente a Dios, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional. A mis padres, por ser el pilar más importante y por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional sin importar nuestras diferencias de opiniones

AGRADECIMIENTO

A lo largo de este camino Dios puso a diferentes personas las cuales sin ningún tipo de interés me brindaron su ayuda incondicional, por lo que en primer lugar agradezco a Dios por permitir que ello sucediera.

Entre esas personas se encuentran mis padres, la Dra. Solange Meza, el Dr. Huber Salinas, el Dr. Xavier Sacca, el personal de la Clínica Odontológica GLOHUADENT, la Asistente de Laboratorio de la UCSM Andrea Céspedes; a quienes estoy inmensamente agradecida.

RESUMEN

Los aportes de la fitoterapia, en distintos campos de la Odontología, son de gran beneficio; por esta razón que el propósito de este estudio fue determinar la sensibilidad bacteriana del aceite esencial del orégano (*Origanum vulgare*) frente a las cepas de *Porphyromonas gingivalis*.

El procedimiento para la extracción del aceite se realizó mediante la técnica de arrastre por vapor de agua, muy utilizada para obtener aceites esenciales de diferentes plantas. Se prepararon tres tubos de ensayo en los cuales se inocularon los microorganismos y se llevaron a la incubadora por siete días, paralelamente se procedió a preparar los discos de papel filtro esterilizados y embebidos con aceite esencial de *Origanum vulgare* al 100%, clorhexidina al 0.12% (control positivo) y suero fisiológico (control negativo). Al cabo de los siete días, se prepararon 21 placas Petri con Agar Sangre y se colocó los discos antes preparados. Se determinó tres controles, a las 24, 48 y 72 horas de la exposición.

El presente estudio corresponde a un tipo experimental y se circunscribe dentro de los diseños longitudinal, laboratorio, prospectivo y comparativo. Para la recolección de datos se utilizó la técnica de observación laboratorio y, como instrumento investigativo, se elaboró una Ficha Laboratorio.

Los resultados establecen que el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* aumenta con el transcurrir del tiempo, desde las 24 y hasta las 72 horas. En lo que respecta al grupo expuesto a la clorhexidina, su actividad inhibitoria se mantuvo igual; así mismo el aceite esencial de *Origanum vulgare* al 100% tuvo mejor efecto antibacteriano que la clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Porphyromonas gingivalis* durante el tiempo que duró la investigación.

PALABRAS CLAVE:

Efecto Inhibitorio, Aceite Esencial, *Origanum Vulgare*, *Porphyromona Gingivalis*. Clorhexidina.

ABSTRACT

The contributions of phytotherapy, in different fields of Dentistry, are of great benefit; for this reason, the purpose of this study was to determine the bacterial sensitivity of the essential oil of oregano (*Origanum vulgare*) against the strains of *Porphyromonas gingivalis*.

The procedure for the extraction of the oil was carried out by means of the technique of dragging by steam of water, very used to obtain essential oils of different plants. Three test tubes were prepared in which the microorganisms were inoculated and taken to the incubator for seven days, at the same time we proceeded to prepare filter paper discs sterilized and imbibed with 100% *Origanum vulgare* essential oil, 0.12% chlorhexidine. (positive control) and physiological serum (negative control). After seven days, 21 Petri dishes were prepared with Blood agar and the previously prepared discs were placed. Three controls were determined at 24, 48 and 72 hours after exposure.

The present study corresponds to an experimental type and is circumscribed within longitudinal, laboratorial, prospective and comparative designs. To collect data, the laboratory observation technique was used and, as an investigative tool, a Laboratorial File was prepared.

The results establish that the antibacterial effect of the essential oil of *Origanum vulgare* increases with the passage of time, from 24 to 72 hours. As regards the group exposed to chlorhexidine, its inhibitory activity remained the same; Likewise, the essential oil of *Origanum vulgare* 100% had a better antibacterial effect than chlorhexidine 0.12% on the strains of *Porphyromonas gingivalis* during the time the research lasted.

KEY WORDS: Inhibitory Effect, Essential Oil, *Origanum Vulgare*, *Porphyromona Gingivalis*.

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	I
AGRADECIMIENTO.....	II
RESUMEN	III
ABSTRACT	IV
CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	1
1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA	1
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	2
1.3. OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN.....	2
1.3.1. Objetivo Principal.....	2
1.3.2. Objetivos Específicos	2
1.4. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	3
1.4.1. Importancia de la investigación	3
1.4.2. Viabilidad de la investigación.....	4
1.5. LIMITACIONES DEL ESTUDIO	6
CAPITULO II: MARCO TEORICO	7
2.1. ANTECEDENTES DE INVESTIGACIÓN	7
2.1.1 Antecedentes Internacionales	7
2.1.2 Antecedentes Nacionales	7
2.1.3 Antecedentes Locales.....	8
2.2. BASES TEÓRICAS.....	8
2.2.1. Periodonto	8
2.2.1.1. Concepto:	8
2.2.1.2. Anatomía del periodonto:.....	8
2.2.1.3. Periodontopatías:.....	10
2.2.2. Microflora Oral:.....	11
2.2.2.1. Microorganismos patógenos periodontales:	12
2.2.2.2 Porphyromonas gingivalis.....	13
2.2.3. Procedimientos terapéuticos:.....	15
2.2.3.1 Control químico de la placa	17
2.2.3.2 Clorhexidina.....	17

2.2.4. Medicina Alternativa.....	20
2.2.4.1. Fitoterapia	20
2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BASICOS	25
CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN	27
3.1. FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS PRINCIPAL Y DERIVADAS.....	27
3.1.1 Hipótesis principal:	27
3.1.2 Hipótesis derivadas:	27
3.2. VARIABLES DEFINICIÓN CONCEPTUAL Y OPERACIONAL	28
CAPITULO IV: METODOLOGÍA	29
4.1. DISEÑO METODOLÓGICO	29
4.1.1. Tipo de estudio	29
4.1.2. Diseño de la investigación	29
4.2. DISEÑO MUESTRAL	30
4.2.1. CRITERIOS DE INCLUSION:	30
4.2.2.CRITERIOS DE EXCLUSION:.....	30
4.3. TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	30
4.3.1. Obtención de la cepa bacteriana para el estudio	31
4.3.2. Colocación de los discos.....	32
4.3.3. Recolección de datos	33
4.4. TÉCNICAS ESTADÍSTICAS PARA EL PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN.....	34
4.5. ASPECTOS ÉTICOS	35
CAPITULO V: ANÁLISIS Y DISCUSIÓN.....	36
5.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO:	36
5.2. ANÁLISIS INFERENCIAL:	46
5.3 COMPROBACIÓN DE LAS HIPOTESIS	48
5.4. DISCUSIÓN:	50
CONCLUSIONES.....	52
RECOMENDACIONES	53
FUENTES DE INFORMACIÓN	54
ANEXOS	56
ANEXO 1: INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS	56
ANEXO 2: MATRIZ DE DATOS	57

ANEXO 3: SOLICITUD PARA AUTORIZACIÓN PARA USAR EL LABORATORIO DE LA UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS.	58
ANEXO 4: SOLICITUD PARA AUTORIZACIÓN PARA USAR EL LABORATORIO DE LA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA.	60
ANEXO 5: CONSTANCIA DE HABER DESARROLLADO EL PROYECTO DE TESIS.	62
ANEXO 6: CERTIFICADO DE ANÁLISIS: ESPECIFICACIÓN Y RENDIMIENTO DEL MICRORGANISMO LIOFILIZADO TRAS LA LIBERACIÓN.	63
ANEXO 7: INFORMACIÓN DE CEPA BACTERIANA.	64
ANEXO 8: SECUENCIA FOTOGRÁFICA.	69

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1: COMPORTAMIENTO DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA DEL ACEITE ESENCIAL DE ORIGANUM VULGARE AL 100% SOBRE CEPAS DE PORPHYROMONAS GINGIVALIS	35
TABLA N° 2: COMPORTAMIENTO DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA DE LA CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE CEPAS DE PORPHYROMONAS GINGIVALIS.....	37
TABLA N° 3: COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA ENTRE EL ACEITE ESENCIAL DE ORIGANUM VULGARE AL 100% Y LA CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE CEPAS DE PORPHYROMONAS GINGIVALIS A LAS 24 HORAS	39
TABLA N° 4: COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA ENTRE EL ACEITE ESENCIAL DE ORIGANUM VULGARE AL 100% Y LA CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE CEPAS DE PORPHYROMONAS GINGIVALIS A LAS 48 HORAS	41
TABLA N° 5: COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA ENTRE EL ACEITE ESENCIAL DE ORIGANUM VULGARE AL 100% Y LA CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE CEPAS DE PORPHYROMONAS GINGIVALIS A LAS 72 HORAS	43
TABLA N° 6: PRUEBA DE ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EVALUAR EL COMPORTAMIENTO DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA DEL ACEITE ESENCIAL DE ORIGANUM VULGARE AL 100% Y CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE CEPAS DE PORPHYROMONAS GINGIVALIS	45
TABLA N° 7: PRUEBA T DE STUDENT PARA COMPARAR LA ACTIVIDAD INHIBITORIA ENTRE EL ACEITE ESENCIAL DE ORIGANUM VULGARE AL 100% Y LA CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE CEPAS DE PORPHYROMONAS GINGIVALIS A LAS 24, 48 Y 72 HORAS	46

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO N° 1: COMPORTAMIENTO DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA DEL ACEITE ESENCIAL DE ORIGANUM VULGARE AL 100% SOBRE CEPAS DE PORPHYROMONAS GINGIVALIS	36
GRÁFICO N° 2: COMPORTAMIENTO DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA DE LA CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE CEPAS DE PORPHYROMONAS GINGIVALIS.....	38
GRÁFICO N° 3: COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA ENTRE EL ACEITE ESENCIAL DE ORIGANUM VULGARE AL 100% Y LA CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE CEPAS DE PORPHYROMONAS GINGIVALIS A LAS 24 HORAS	40
GRÁFICO N° 4: COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA ENTRE EL ACEITE ESENCIAL DE ORIGANUM VULGARE AL 100% Y LA CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE CEPAS DE PORPHYROMONAS GINGIVALIS A LAS 48 HORAS	42
GRÁFICO N° 5: COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA ENTRE EL ACEITE ESENCIAL DE ORIGANUM VULGARE AL 100% Y LA CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE CEPAS DE PORPHYROMONAS GINGIVALIS A LAS 72 HORAS	44

CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

La Organización Mundial de la Salud (OMS), afirma que las enfermedades bucodentales, como la caries dental, la enfermedad periodontal constituyen problemas de salud pública que afecta a los países industrializados y cada vez con mayor frecuencia a los países en desarrollo.

En el Perú la prevalencia de enfermedad periodontal se ha mantenido en el tiempo a pesar de las diversas acciones de promoción y prevención ejercidas por los diversos servicios de salud existentes en el país.

La Enfermedad periodontal es un importante problema de salud pública, causando pérdida de dientes, discapacidad, disfunción masticatoria y estado nutricional deficiente. Asimismo, las manifestaciones de la periodontitis como el sangrado, la halitosis, la recesión gingival y la pérdida de dientes pueden tener un impacto más allá del individuo que las padece, además que comprometen el habla y reduce la calidad de la vida.

Es sabido que la enfermedad periodontal puede conllevar y contribuir al desarrollo de patologías que afectan gravemente la salud del paciente, la presencia continua a largo plazo de microorganismos en boca los cuales se encuentran en continuo contacto con tejidos ricamente vascularizados nos lleva a pensar que este cuadro va a desencadenar inevitables consecuencias.

Siendo la *Porphyromona gingivalis* el principal patógeno de la periodontitis crónica, debería ser de importancia el control del mismo para brindar un tratamiento más efectivo. Si bien existen productos químicos que ayudan de gran manera a tener un resultado favorable en el tratamiento de la enfermedad periodontal, como es el caso de la clorhexidina, pero también es cierto que tiene efectos secundarios los cuales a pesar de no ser tan graves pueden generar insatisfacción de alguna manera en los pacientes.

El empleo de productos naturales resulta así una gran alternativa de tratamiento, brindando beneficios con la menor cantidad de efectos secundarios adversos, actualmente se están realizando múltiples estudios proponiendo y promoviendo nuevos posibles esquemas de tratamiento para diferentes patologías.

Los profesionales en Odontología no deben estar ajenos a estas nuevas propuestas, puesto a que nuestra finalidad es el servicio a los demás y brindar las mejores soluciones a los pacientes, es importante evaluar los resultados en la aplicación de dichos productos.

El Perú posee muchos recursos naturales y aunque el *Origanum Vulgare* es de origen Mediterráneo Europeo, la producción de este se efectúa con éxito principalmente en Tacna y Arequipa realizando incluso exportaciones. Además, es importante mencionar que su empleo no solo es como una planta aromática, sino que posee múltiples cualidades las cuales pueden ser muy provechosas en el desempeño de nuestra labor.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cuál es el efecto Inhibitorio del Aceite Esencial de *Origanum vulgare* al 100% en comparación con el de la clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Porphyromonas Gingivalis*?

1.3. OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN

1.3.1. Objetivo Principal

- Comparar el efecto inhibitorio del Aceite esencial de *Origanum vulgare* al 100% y de la Clorhexidina al 0.12% en cultivos de *Porphyromonas gingivalis*.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Determinar el efecto inhibitorio del aceite esencial de *Origanum vulgare* al 100% sobre la cepa de *Porphyromonas gingivalis*.

- Determinar el efecto inhibitorio de la clorhexidina al 0.12% sobre la cepa de *Porphyromonas gingivalis*.
- Evaluar el nivel de inhibición formado después de la aplicación de aceite esencial de *Origanum vulgare* al 100% sobre cultivos de *Porphyromonas gingivalis*.
- Evaluar el nivel de inhibición formado después de la aplicación de la Clorhexidina al 0.12% sobre cultivos de *Porphyromonas gingivalis*.

1.4. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.4.1. Importancia de la investigación

Siendo la enfermedad periodontal una de las patologías más frecuentes en boca, la cual es producida por múltiples factores de los cuales el desenvolvimiento de los microorganismos cumple un papel importante, nos lleva a pensar en las posibilidades de tratamiento que podemos brindar a nuestros pacientes y por ende la búsqueda de nuevas alternativas para combatir los posibles factores que provoquen alguna deficiencia en los servicios brindados.

El empleo de agentes de acción bacteriana tanto en la prevención, control y tratamiento de la enfermedad periodontal resultan de mucha importancia, pero actualmente la resistencia bacteriana y algunos efectos secundarios que puedan desencadenar hace que busquemos nuevas alternativas para el beneficio del paciente, encontrando así en la medicina natural y el empleo de productos vegetales una variedad de alternativas. Por lo tanto, es importante estudiar otros productos que pueden ayudar a brindar un tratamiento óptimo que ayude en sus intervenciones al profesional de la salud, que beneficiará directamente a la población en general.

El Origanum Vulgare (Orégano) es una hierba muy común en nuestro medio la cual ha demostrado múltiples virtudes las cuales pueden ser aprovechadas para el control y tratamiento de la periodontitis.

Debido a esto, el estudio pretende demostrar la efectividad de un producto natural, como lo es el Origanum Vulgare (orégano), en la inhibición de Porphyromonas gingivalis, y compararlo con el de la clorhexidina al 0.12% ya que este es el principal agente antibacteriano utilizado para complementar el tratamiento de la enfermedad periodontal.

1.4.2. Viabilidad de la investigación

El presente proyecto se basa en una investigación de tipo experimental, el cual para ser realizado requirió el empleo de múltiples materiales e instrumentales, además de un lugar adecuado donde realizarlo, en este caso un laboratorio.

La investigación se realizó en un corto plazo, aproximadamente de dos meses, durante el año 2018.

A) Recursos humanos:

- **Investigador:** Naida Evelyn Humari Catillo.
- **Asesores:**
 - **Director Técnico:** Dra. Solange Meza Zegarra
 - **Estadístico:** Dr. Xavier Sacca Urday

B) Recursos financieros:

En lo que respecta a los recursos financieros, todos fueron solventados por la investigadora, quien se encargó también de tramitar las autorizaciones necesarias para acceder a los laboratorios y áreas correspondientes para llevar a cabo la investigación.

C) Materiales:

- Placas Petri (de plástico esterilizadas).
- Discos de papel filtro
- Hisopos Estériles
- Tubos de ensayo
- Asas de cultivo
- Micro pipeta “BOECO Germany”
- Alcohol
- Encendedor
- Cocina eléctrica
- Agua destilada
- Aluminio
- Matraz
- Pera de decantación
- Equipo de destilación
- Balanza de precisión “Scout Pro”
- Autoclave
- Estufa
- Cámara de Co2 “H.W. Kessel s.a.”
- Medios de cultivo (agar sangre anaerobic, caldo de cultivo BHI)
- Cepa Porphyromona gingivalis ATCC® 33277™
- Origanum Vulgare
- Clorhexidina 0.12%
- Suero Fisiológico
- Agua destilada
- Vernier “Uyustools”
- Mecheros

- Campos descartables
- Guantes
- Cámara fotográfica
- Pinzas
- Computadora e impresora
- Papel

D) Institucionales:

- 8 Católica de Santa María.

1.5. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Las únicas limitaciones del estudio son del tipo procedimental, pues se deberá tener todos los cuidados necesarios durante el procedimiento para obtener la información más exacta.

Así mismo, el estudio requerirá los medios adecuados para el cultivo de las cepas de *Porphyromonas gingivalis*, cualquier falla en el procedimiento podría alterar los resultados.

CAPITULO II: MARCO TEORICO

2.1. ANTECEDENTES DE INVESTIGACIÓN

2.1.1 Antecedentes Internacionales

García Chanataxi, Gabriela Alexandra. **EFFECTO INHIBITORIO DEL ACEITE ESENCIAL DE ORIGANUM VULGARE (ORÉGANO) EN CEPAS DE PORPHYROMONAS GINGIVALIS. ESTUDIO IN VITRO.**

El aceite de Origanum vulgare al 100% obtuvo el mayor halo de inhibición promedio de 18.58mm a las 24 horas.

2.1.2 Antecedentes Nacionales

Pimentel Ramírez, Erika; Castillo Andamayo, Diana; Quintana Del Solar, Martin; Maurtua Torres, Dora; Villegas Vélchez, León; Díaz Santisteban, Camilo. **EFFECTO ANTIBACTERIANO DE EXTRACTOS ETANÓLICOS DE PLANTAS UTILIZADAS EN LAS TRADICIONES CULINARIAS ANDINAS SOBRE MICROORGANISMOS DE LA CAVIDAD BUCAL.**

Se determinó que la actividad antibacteriana de las sustancias experimentales para la cepa Lactobacillus acidophilus fue el extracto etanólico del orégano al 100% tuvo un promedio en los halos de inhibición de $18,43 \pm 3,96$ mm, el extracto etanólico del chincho al 100% de $20,5 \pm 2,99$ mm, clorhexidina al 0,12% de $21,3 \pm 0,38$ m y Colgate Plax $14,93 \pm 0,84$ mm. Frente a la cepa de Porphyromonas gingivalis el extracto etanólico de chincho al 100% tuvo un promedio en los halos de inhibición de $16,27 \pm 2,67$, el extracto etanólico de orégano 100% tuvo un promedio en los halos de inhibición de $25,86 \pm 1,18$ mm, el extracto etanólico del huacatay al 100% de $24,49 \pm 3,21$ mm, con clorhexidina al 0,12% de $19,59 \pm 0,48$ mm y con Colgate Plax $14,29 \pm 0,3$ mm. La MIC del extracto etanólico del chincho frente a la cepa Lactobacillus acidophilus ATCC 43121 fue

de 125 mg/mL, encontrando la medida de los halos de inhibición de 10,33 mm.

Villavicencio Gastelú, Jorge Eleodoro; Moromi Nakata, Hilda; Salcedo Moncada, Doris; Pineda Mejía, Martha; Ramos Perfecto, Donald; Zambrano de la Peña, Livia Sonia; Martínez Cadillo, Elba Estefanía; Mendoza Rojas, Gilberto Alejandro; Petkova Gueorguieva, Marieta; Bardales Álvarez, Roxana Margarita. **EFFECTO ANTIMICÓTICO IN VITRO DE ORIGANUM VULGARE SOBRE CEPAS DE CANDIDA ALBICANS.** Los resultados mostraron alta actividad antimicótica de todos los aceites a partir de las concentraciones de 12,5 %.

2.1.3 Antecedentes Locales

No se encontraron

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. Periodonto

2.2.1.1. Concepto:

El periodonto se conforma por los tejidos de soporte y protección del diente. El periodonto está sometido a variaciones funcionales y morfológicas. ⁽¹⁾

2.2.1.2. Anatomía del periodonto:

Los tejidos que forman el periodonto comprenden la encía, el hueso alveolar, el ligamento periodontal y el cemento radicular. ⁽¹⁾

a. La encía:

La encía es la parte de la mucosa masticatoria que recubre la apófisis alveolar y rodea la porción cervical de los dientes. ⁽⁶⁾

Consta de un epitelio plano multiestratificado y queratinizado, que contiene muchas fibras colágenas. La encía sana tiene un color rosa claro y muestra un punteado más o menos intenso en su superficie.

Desde el punto de vista anatómico la encía se divide en marginal insertada e interdental. ⁽¹⁾

b. Ligamento periodontal:

El ligamento periodontal es el tejido blando altamente vascularizado y celular que rodea a las raíces de los dientes y conecta el cemento radicular con la pared del alvéolo. ⁽⁶⁾

Se continúa con el tejido conectivo de la encía y se comunica con los espacios medulares a través de los conductos vasculares del hueso.

Las fibras periodontales son los elementos más importantes del ligamento periodontal; son de colágena, están dispuestas en haces y siguen la trayectoria sinuosa en cortes longitudinales. ⁽¹⁾

c. Hueso alveolar:

La porción de los maxilares, sobre la que asientan los dientes, se conoce como apófisis alveolar. Se compone de la cortical vestibular y lingual, el hueso alveolar y la esponjosa. La cresta del hueso alveolar, picuda (reborde alveolar, cresta alveolar), es el lugar en donde se reúnen la cortical vestibular y lingual. ⁽⁴⁾

d. Cemento:

Es el tejido mesenquimatoso calcificado que forma la cubierta exterior de la raíz anatómica. ⁽¹⁾

El esmalte dental y el cemento radicular se unen por el límite o unión amelocementaria. En la mayoría de los casos, el cemento radicular se superpone al esmalte. ⁽⁴⁾

El cemento radicular, el ligamento periodontal y el hueso alveolar constituye el aparato de inserción del diente, cuya función principal consiste en distribuir y absorber las fuerzas generadas por la masticación y otros contactos dentarios. ⁽⁶⁾

2.2.1.3. Periodontopatias:

La enfermedad periodontal es la patología oral con mayor prevalencia a nivel mundial. ⁽⁵⁾

La gingivitis, se presenta por una respuesta inflamatoria de tejidos blandos del periodonto causada por depósitos de placa bacteriana, sin pérdida de inserción mientras que periodontitis, es una inflamación crónica que afecta a los tejidos de soporte del diente, ocasionando una destrucción progresiva de tejidos blandos y duros; al examen clínico se observa formación de bolsas periodontales, pérdida de inserción y/o recesión gingival. ⁽¹⁾

a. Periodontitis crónica:

Una de las patologías más comunes en la cavidad oral es la periodontitis crónica, que tiene una alta prevalencia. ⁽⁵⁾

Las enfermedades periodontales son infecciones causadas por microorganismos que colonizan la superficie dentaria en el margen gingival o por debajo de él, produciendo una reacción inflamatoria de los tejidos blandos y duros; se cree que 700 especies diferentes son capaces de colonizar la cavidad oral y que un individuo aloja 150 especies distintas. ⁽⁶⁾

La periodontitis crónica presenta una etiología bacteriana predominante, siendo entre ellas, las que más destacan *P. gingivalis*, *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola*, que son considerados como el grupo agresivo en la lesión. Pero es la *P. gingivalis* la predominante en esta patología. ⁽⁷⁾

Las características generales de la Periodontitis Crónica incluyen síntomas como:

- Existe mayor prevalencia de la periodontitis crónica en adultos.
- Se observa en algunos pacientes que la gran pérdida de los tejidos periodontales mantiene relación con la higiene oral y los niveles de placa; donde intervienen factores locales como fumar, estrés y factores de riesgo sistémicos.
- La composición de la biopelícula varía entre individuos y sitios, así la biopelícula subgingival acoge una gran variedad de especies bacterianas.
- La periodontitis crónica se clasifica en localizada cuando está afectando menos del 30% y en generalizada cuando sobrepasa este límite.
- La periodontitis crónica también se clasifica por su gravedad en ciertos sitios, según el grado de pérdida de inserción clínica: leve de 1 a 2mm, moderada de 3 a 4mm y avanzada más de 5mm. ⁽⁶⁾.

2.2.2. Microflora Oral:

En un individuo sano, la flora de la cavidad oral mantiene un equilibrio ecológico con el huésped, esto permite mantener un estado de salud en las estructuras del periodonto. Pero este se

puede alterar por algunos factores como la terapia antimicrobiana o por cambios en su sistema de defensa. ⁽⁸⁾

2.2.2.1. Microorganismos patógenos periodontales:

Se considera patógeno a aquel microorganismo capaz de desafiar los mecanismos de defensa del huésped, causar daño y alterar el equilibrio entre el huésped y los microorganismos que conforman el biofilm oral.

Según Socransky los criterios para definir patógenos periodontales incluyen:

- Que exista relación de la enfermedad periodontal con el aumento de la cantidad de microorganismos en sitios afectados
- Presencia de mejoría clínica tras la eliminación o disminución de las bacterias del área subgingival.
- Presencia de reacción inmunitaria celular o humoral del huésped afectado.
- Patogenicidad en modelos animales experimentales.
- Presencia de factores de virulencia que permitan que el microorganismo destruya los tejidos periodontales. ⁽⁸⁾

Las relaciones ecológicas entre la flora microbiana periodontal y su huésped son, en términos generales, benignas, puesto a que no es frecuente el daño a las estructuras de soporte dentario.

En ocasiones, un subgrupo de especies bacterianas se introduce o sobredesarrolla, o muestra nuevas propiedades que originan la destrucción del periodonto. El desequilibrio resultante suele corregirse espontáneamente o con la aplicación de medidas terapéuticas. ⁽⁶⁾

2.2.2.2 *Porphyromonas gingivalis*

Por consenso, *P. gingivalis* es el segundo patógeno periodontal más estudiado. Los cultivos de esta especie demuestran que es un bacilo gramnegativo, anaerobio, no móvil, asacarolítico y que exhibe morfologías de cocoideas a bacilares cortas.

Es un miembro del muy investigado grupo de los "Bacteroides de pigmentación negra". Los microorganismos de este grupo forman colonias de color negro- amarronado en placas de agar sangre. ⁽⁶⁾

Es una bacteria anaerobia que habita el área subgingival y tiene un importante papel en la etiología y patología de la enfermedad periodontal.

Los aspectos anatómicos y fisiológicos del surco y las bolsas periodontales permiten que sean sitios resistentes al efecto de limpieza de la saliva, de la actividad mecánica de la lengua y de las mejillas y se convierte en un área de retención y estancamiento de bacterias.

Las bacterias que colonizan el área gingival se nutren del líquido gingival, el cual, contiene proteínas, carbohidratos, minerales y vitaminas que fomentan el crecimiento de la microbiota del surco. ⁽¹⁰⁾

a. Factores patogénicos de *Porphyromonas gingivalis*

Porphyromonas gingivalis es un cocobacilo Gram negativo, mide de 0.5- 0.8 μm x 1 - 3.5 μm , posee abundantes fimbrias, no es esporulado y no tiene flagelos; muchas cepas son capsuladas *Porphyromonas Gingivalis* es asacarolítica, su nutrición depende de pequeños péptidos y aminoácidos y requiere de hemina como fuente de hierro.

Los factores patogénicos de *Porphyromonas Gingivalis* incluyen estructuras facultativas, componentes de la pared y productos de secreción.

Las fimbrias y la cápsula son importantes estructuras facultativas implicadas en la virulencia y las proteasas como productos de secreción son fundamentales en los procesos patogénicos.⁽¹⁰⁾

b. Porphyromonas gingivalis y enfermedad periodontal

Porphyromonas gingivalis puede dañar la barrera de tejido epitelial y favorecer la difusión de productos bacterianos tóxicos. O puede invadir la membrana basal subepitelial y ganar acceso al tejido conectivo. La actividad queratinolítica producida por proteasas de *Porphyromonas gingivalis* produce cambios en la barrera epitelial, daña células y produce pérdida de la estructura de tejido.⁽¹⁰⁾

Pruebas que apoyan la función de *Porphyromonas gingivalis* como patógeno en las enfermedades periodontales, criterios de Socransky:

Criterio	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>Relación</i>	Aumenta en lesiones de periodontitis Aparece en relación con el epitelio del surco
<i>Eliminación</i>	Suprimido o eliminado en el tratamiento Aparece en lesiones recurrentes
<i>Reacción del huésped</i>	Mayores concentraciones locales y sistémicas de anticuerpos en periodontitis
<i>Estudios con animales</i>	Se sabe que es importante en infecciones experimentales mixtas y en la periodontitis en el mono cinomolgo
<i>Factores de virulencia</i>	Invasión y adherencia a células de los tejidos del huésped, colagenasa, enzima del tipo tripsina, fibrinolisisina, fosfolipasas

Periodontología Clínica de Carranza. Onceava Edición ed.; 2014 (1)

2.2.3. Procedimientos terapéuticos:

El tratamiento periodontal es parte inseparable del tratamiento odontológico. La secuencia en la que las fases del tratamiento periodontal se llevan a cabo varía en cierto modo en relación a las exigencias de cada caso. ⁽¹⁾

Sin embargo, la secuencia preferida que cubre la mayoría de los casos es la siguiente:

- Fase preliminar:

- Tratamiento de urgencias:
- Dental o periapical
- Periodontal
- Otros

Extracción de dientes sin remedio y sustitución provisional si es necesario (puede posponerse para un momento más conveniente).

- Fase etiotrópica (tratamiento de fase I):

Control de la placa y educación del paciente

- Control de la dieta (en pacientes con caries generalizadas)
- Eliminación del cálculo y alisado radicular
- Corrección de factores restaurativos y prostéticos de irritación
- Limpieza de la caries y restauraciones (provisional o definitiva siempre que se establezca un pronóstico definitivo para el diente al localizar la caries).
- Tratamiento antimicrobiano (local o sistémico)
- Tratamiento oclusivo
- Movimiento ortodóntico pequeño
- Ferulización y prótesis provisionales

Evaluación de la reacción de la fase etiotrópica

Revaloración:

- Profundidad de bolsa e inflamación gingival.
- Placa, cálculos, caries

- Fase quirúrgica (tratamiento de fase II)

Procedimientos periodontales incluida la colocación de implantes

Tratamiento endodóntico

- Fase restaurativa (Tratamiento de fase III)

Restauraciones finales

Prostodoncia fija o removible o ambas

Evaluación a la reacción de procedimientos restaurativos

Examen periodontal

- Fase de mantenimiento (tratamiento de fase IV)

Visitas periódicas de control

- Placa y calculo
- Estado gingival (bolsas, inflamación)
- Oclusión, movilidad dentaria
- Otros cambios patológicos ⁽¹⁾

2.2.3.1 Control químico de la placa

La eliminación mecánica de la placa es todavía la técnica básica empleada para evitar las enfermedades dentarias y conservar la salud bucal.

Existen productos químicos valorados en estudios clínicos controlados en los que demuestran mejorar la salud gingival, por lo cual la ADA ha aceptado dos sustancias para ser parte de la terapia periodontal. ⁽¹⁾

2.2.3.2 Clorhexidina

Hasta el momento la sustancia que ha suministrado resultados más positivos es la clorhexidina, un diguanidohexano con relevantes propiedades antisépticas. ⁽¹⁾

a. Composición

La clorhexidina deriva de una bisguanida de carga positiva catiónica, es decir que tiene una superficie positiva que se une a superficies negativas, lo que incluye dientes, tejidos blandos y bacterias, con amplio espectro de actividad antibacteriana, es poco soluble en agua en su forma base, y muy soluble en su forma de sal donde se libera su componente activo tomando el nombre de Digluconato de clorhexidina.

Su composición consta de dos anillos simétricos de 4 clorofenil y dos grupos biguanida ligados por una cadena central de hexametileno ⁽¹⁷⁾.

b. Mecanismo de acción

La clorhexidina es una sustancia antibacteriana potente. El antiséptico se liga fuertemente a la membrana plasmática bacteriana. En baja concentración, esto da por resultado un aumento de la permeabilidad con pérdida de componentes intracelulares, incluido el potasio. La clorhexidina en alta concentración produce precipitación del citoplasma bacteriano y muerte de esas células. En la boca, se adsorbe con rapidez en las superficies, entre ellas los dientes recubiertos por una película. Una vez adsorbida y a diferencia de otros antisépticos, muestra una acción bacteriostática persistente que dura más de 12 horas. Estudios realizados con clorhexidina marcada con radio indicaron que el antiséptico se libera lentamente de las superficies ⁽⁶⁾

c. Aplicaciones

- Al 4% como antiséptico para manos
- Al 0,2% o 0,12% en gel para uso local preciso.
- Al 0,12% y 0,2% como colutorios para controlar el biofilm.
- Al 0.1% como preservante de gotas oftálmicas
- Del 0,1 al 1% para cremas y ungüentos.

La clorhexidina posee un amplio rango antimicrobiano, considerado por la American Dental Association (ADA) un ingrediente activo ideal para el tratamiento de enfermedades periodontales a corto plazo debido a sus reacciones adversas ⁽¹⁷⁾.

d. Efectos secundarios

El uso de clorhexidina conlleva efectos secundarios; en especial manchas pardas en los dientes, la lengua y las restauraciones de silicato y resina, así como la alteración pasajera de la percepción gustativa.

La clorhexidina posee una actividad sistémica tóxica muy baja en los seres humanos. ⁽¹⁾

Existen informes sobre diversos efectos colaterales locales del uso de clorhexidina en colutorios. Estos efectos colaterales son:

- Coloración parda de los dientes, de algunos materiales de restauración y del dorso de la lengua (esto será analizado adicionalmente).
- Perturbación del gusto. El gusto salado aparece afectado preferentemente y deja los alimentos y bebidas con sabor más bien insulso.
- Erosión de la mucosa bucal, esta parece ser una reacción idiosincrásica y dependiente de la concentración. El problema se alivia con la dilución de la fórmula al 0,2% hasta 0,1%, aunque se duplique el volumen para mantener la dosis. Rara vez se observan erosiones con productos para enjuague bucal con concentración de 0,12% y usados con un volumen de 15 ml.
- Tumefacción unilateral o bilateral de la parótida. Éste es un acontecimiento excepcional, para el cual todavía no hay explicación.

- Aumento de la formación de cálculos (sarro) supragingival. Este efecto puede deberse a la precipitación de proteínas de la saliva sobre la superficie dental, con lo cual crece el espesor de la película y/o la precipitación de sales inorgánicas en esa capa superficial. Se ha comprobado que la formación de una película bajo la influencia de la clorhexidina muestra una estructura inicial altamente calcificada.

Además, la clorhexidina tiene un sabor amargo que es difícil de enmascarar por completo. ⁽⁶⁾

2.2.4. Medicina Alternativa

Medicina alternativa se considera al conjunto de disciplinas terapéuticas y diagnósticas que existen fuera de las instituciones del sistema de salud convencional.

El uso de la medicina alternativa hoy en día está muy extendido; ya no es patrimonio de sociedades con historia cultural tradicional ⁽¹²⁾.

2.2.4.1. Fitoterapia

Fitoterapia significa phyton (planta) y therapia (tratamiento).

Fitoterapia se refiere al tratamiento de las enfermedades con plantas. Actualmente la fitoterapia se define como 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. ⁽²¹⁾

El empleo de plantas medicinales por la población es consecuencia de la creencia de que los medicamentos provenientes de extractos naturales tienen menor probabilidad de causar efectos colaterales y son más

eficaces que los medicamentos alopáticos, además de ser más baratos.

Sin embargo, se sabe que los fitoterápicos también acarrear efectos colaterales y tienen contraindicaciones, siendo necesario conocer sus principios activos, los aspectos relacionados a la calidad de la planta y su procedencia a fin de que puedan ser usados con seguridad.⁽¹³⁾

a. Aceites esenciales:

Los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y que son importantes en la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), de alimentos (condimentos y saborizantes) y farmacéutica (saborizantes).⁽¹⁴⁾

Los aceites esenciales poseen amplio poder antimicrobiano que se debe a tres características:

- ✓ Carácter hidrófilo o hidrófobo: altera y atraviesa la estructura lipídica de la pared celular llevándolo a la desnaturalización y muerte.
- ✓ Componentes químicos: pueden actuar como agentes que interfieren con la translocación de protones y la fosforilación del ATP
- ✓ Tipo de microorganismo al que debe atacar: las bacterias Gram negativas poseen mayor susceptibilidad que las Gram positivas in vitro.⁽¹⁵⁾

b. Origanum vulgare

Es una planta perenne, perteneciente a la familia Lamiaceae. Originario de la región del Mediterráneo,

también cultivado en Europa, Asia y Taiwán y en América del Sur. Su principal productor es Chile, pero también es producido en Bolivia, Perú, y en menor escala, en Argentina y Uruguay. ⁽¹⁶⁾

El orégano tiene un aroma y sabor fuerte debido a que contiene sustancias volátiles como el timol, al que se atribuyen propiedades anti-envejecimiento. Es una hierba conocida por sus propiedades calmantes y como reductora de stress, y se utiliza como tónico para el sistema nervioso.

El orégano también se aplica tópicamente para inflamaciones menores de la piel y pequeñas heridas. Las flores secas tienen propiedades antisépticas, antimicrobianas y antimicóticas. El efecto antibacterial es similar al del ajo y la cebolla. ⁽¹⁴⁾

I. Composición química

Su aceite esencial contiene principalmente g-terpineno, p-cimeno, timol y carvacrol. ⁽¹⁴⁾

II. Propiedades:

A. Antioxidante

Los compuestos antioxidantes le dan la capacidad de proteger las células contra el daño oxidativo, por lo cual se desarrolla el envejecimiento y enfermedades crónicas degenerativas, como el cáncer.

El potencial antioxidante del orégano ha sido determinado por su capacidad de inhibir la peroxidación lipídica, protegiendo el ADN del daño por radicales hidroxilos.

El potencial antioxidante de extractos y aceites esenciales de diferentes variedades de orégano se ha demostrado gracias a estudios de su composición química aplicándolos sobre varios microorganismos.

El aceite esencial de *Origanum vulgare* tiene actividad anti-radical y esta propiedad se atribuye al carvacrol y timol. ⁽¹⁸⁾

B. Antimicrobiano

Los aceites esenciales de las diferentes especies de *Origanum* presentan actividad contra bacterias gram negativas como *Escherichia coli* y bacterias gram positivas como *Staphylococcus aureus*. Los fenoles carvacol y timol poseen niveles más altos de actividad contra microorganismos gram negativas, siendo el timol el más activo. ⁽¹⁶⁾

C. Acción antifúngica

Estudios han demostrado que el aceite de orégano es una buena alternativa en el tratamiento de *Candida albicans* por su acción antifúngica. Se determinó que el aceite esencial de *Origanum vulgare* L, posee efecto antimicótico sobre *Candida albicans* concentraciones de 100 %, 50 %, 25 % y 12,5 %. ⁽¹⁹⁾

D. Efecto antiparasitario

Los compuestos monoterpénicos volátiles presentes comúnmente en aceites esenciales de varios tipos de orégano como el terpineol utilizados comúnmente para tratamientos contra piojos. ⁽¹⁸⁾

E. Actividad insecticida

Existen antecedentes del uso de fenoles, se han realizado pruebas para determinar su efectividad protegiendo cultivos contra plagas. Algunos aceites esenciales y sus componentes como el timol o el carvacol tienen un amplio espectro contra insectos, ácaros, hongos y nematodos, tales como *Rhysopertha dominica*, plaga que afecta a granos almacenados y contra mosca doméstica. ⁽²⁰⁾

F. Otros usos y aplicaciones

El orégano (*O. vulgare*) tiene usos medicinales, culinarios y cosméticos. Es utilizado en forma fresca y seca en la cocina mediterránea y de América Latina. Tiene usos tradicionales y farmacológicos tales como culinarios, analgésicos, antiinflamatorios, antipiréticos, sedantes, antidiarréico, tratamiento de infecciones cutáneas, antifúngico, tratamiento de desórdenes hepáticos, diurético, antihipertensivo, remedio de desórdenes menstruales, antimicrobiano, repelente, tratamiento de enfermedades respiratorias, de sífilis y gonorrea, contra la diabetes, abortivo y anestésico local.

Debido a la capacidad antioxidante de los extractos acuosos del orégano, se sugiere que éstos pueden ser empleados como sustituto de los antioxidantes sintéticos. ⁽¹⁸⁾

III. Efectos secundarios

No son frecuentes los efectos secundarios de esta planta medicinal, pero con el aceite esencial de *Origanum vulgare* se recomienda evitar el uso en personas que presenten alergia a las plantas de la

familia Lamiaceae (menta, lavanda, salvia, albahaca).⁽²¹⁾

2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BASICOS

Aceites esenciales: Son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas. ⁽¹⁴⁾

Origanum vulgare: Es una planta perenne, perteneciente a la familia Lamiaceae. Originario de la región del Mediterráneo, también cultivado en Europa, Asia y Taiwán y en América del Sur. ⁽¹⁶⁾

Periodontitis crónica: Inflamación crónica que afecta a los tejidos de soporte del diente, ocasionando una destrucción progresiva de tejidos blandos y duros; Una de las patologías más comunes en la cavidad oral es la periodontitis crónica, que tiene una alta prevalencia. ⁽¹⁾⁽⁵⁾

Porphyromonas gingivalis: Es un cocobacilo gram negativo, anaerobio estricto, el cual cumple un papel importante en el desarrollo de la periodontitis crónica. ⁽¹⁰⁾

Efecto: Es el resultado, el fin, la conclusión, la consecuencia, lo que se deriva de una causa, de ahí proviene el principio fundamental causa-efecto, de la ciencia y de la filosofía.

Clorhexidina: Antiséptico bactericida de amplio espectro, más utilizado ya que elimina bacterias Gram positivas, Gram negativas, microorganismos aerobios, anaerobios y hongos como *Candida albicans* en la cavidad oral.⁽¹⁾⁽⁶⁾

CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS PRINCIPAL Y DERIVADAS

3.1.1 Hipótesis principal:

Es probable que el aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) tendrá mayor efecto inhibitorio que el de la clorhexidina al 0.12% frente a cepas de *Porphyromonas gingivalis*

3.1.2 Hipótesis derivadas:

Primera:

Es probable que el aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) tenga un efecto inhibitorio sumamente sensible sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.

Segunda:

Es probable que el aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) tenga igual efecto inhibitorio que la clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.

3.2. VARIABLES DEFINICIÓN CONCEPTUAL Y OPERACIONAL

Variables principales

VARIABLE	INDICADORES	NATURALEZA	ESCALA
Efecto inhibitorio del Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> al 100%	<ul style="list-style-type: none"> • Nula (-): para un diámetro inferior a 8 mm. • Sensibilidad límite (sensible = +): para un diámetro comprendido entre 8 a 14 mm. • Medio (muy sensible = ++): para un diámetro entre 14 y 20 mm. • Sumamente sensible (+++): para un diámetro superior a 20mm. 	Cuantitativa	Razón
Efecto inhibitorio de la clorhexidina al 0.12%	<ul style="list-style-type: none"> • Nula (-): para un diámetro inferior a 8 mm. • Sensibilidad límite (sensible = +): para un diámetro comprendido entre 8 a 14 mm. • Medio (muy sensible = ++): para un diámetro entre 14 y 20 mm. • Sumamente sensible (+++): para un diámetro superior a 20mm. 	Cuantitativa	Razón

CAPITULO IV: METODOLOGÍA

4.1. DISEÑO METODOLÓGICO

4.1.1. Tipo de estudio

Experimental in vitro: puesto a que se realizó la aplicación del aceite esencial de *Origanum Vulgare* al 100% y la clorehexidina al 0.12% sobre nuestras unidades de estudio, en este caso las cepas de *Porphyromonas gingivalis*, para evaluar su efecto inhibitorio y ser comparado.

4.1.2. Diseño de la investigación

- De acuerdo a la temporalidad: la presente investigación es longitudinal, ya que se realizaron diferentes controles después de aplicado el aceite esencial, específicamente fueron tres, a las 24, 48 y 72 horas de aplicados los estímulos.
- De acuerdo al lugar de recolección, la investigación fue laboratorial, pues se efectuó en el laboratorio de la Universidad Católica de Santa María, donde se llevó a cabo los procedimientos necesarios para el crecimiento del cultivo de las cepas bacterianas y su exposición posterior a los estímulos establecidos.
- De acuerdo al momento de la recolección de datos, es estudio es prospectivo, pues la información fue recolectada basándonos en lo que obtuvimos después de realizada la aplicación del aceite esencial.
- De acuerdo al propósito, la investigación es comparativa, dado que se buscan diferencias entre los diferentes tiempos en los que se llevó a cabo las mediciones establecidas y además, entre los grupos de estudio, que fueron el aceite esencial del orégano y la clorhexidina.

4.2. DISEÑO MUESTRAL

La muestra estuvo constituida por cepas de bacterias de *Porphyromonas gingivalis* ATCC® 33277™ que reunieron los criterios de selección propuestos. El tamaño de muestra fue de 20 placas Petri, donde se inocularon la bacteria y se colocaron discos de papel embebidos en aceite esencial al 100%, clorhexidina al 0.12% (control positivo) y suero fisiológico (control negativo) con un tiempo de exposición de 72 horas. El tamaño de la muestra se determinó de acuerdo a los antecedentes investigativos consultados.

4.2.1. CRITERIOS DE INCLUSION:

- Cajas petri con cultivo de *Porphyromonas gingivalis* ATCC® 33277™ las cuales no sufrieron ningún tipo de contaminación.
- Cajas petri con cultivo de *Porphyromonas gingivalis* ATCC® 33277™ las cuales no presenten alguna rajadura en su superficie.
- Cajas petri con cultivo de *Porphyromonas gingivalis* ATCC® 33277™ donde se desarrolle las cepas bacterianas.

4.2.2. CRITERIOS DE EXCLUSION:

- Cajas petri con cultivo de *Porphyromonas gingivalis* ATCC® 33277™ las cuales sufrieron alguna alteración por mala ejecución de los procedimientos laborales.
- Cajas petri con cultivo de *Porphyromonas gingivalis* ATCC® 33277™ que no sean viables.

4.3. TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Obtención del aceite esencial de *Origanum vulgare*

Se recolectó como muestra de la planta de orégano sus ramas, tallos y flores. La planta fue proveniente de cultivos en Pedregal, Arequipa. Luego de obtener las muestras de la planta, se procedió a verificar que no

presenten síntomas de envejecimiento, ni se encuentren deterioradas por plagas. Todo el producto elegido fue lavado con agua fría, para luego ser secado bajo sombra, hasta obtener el producto completamente seco y homogéneo el cual tuvo un peso en total de 500gr.

El procedimiento para la extracción del aceite se realizó mediante la técnica de destilación por arrastre por vapor de agua, esta técnica es una de las más empleadas para obtener aceites esenciales de diferentes plantas las cuales tengan una buena cantidad de aceite a ser extraído como es el caso del orégano.

Para lo cual se presentaron las solicitudes correspondientes para utilizar el laboratorio de la Universidad Alas Peruanas y poder acceder a los equipos e instrumentos necesarios.

Empleándose así el equipo de destilación (dos balones, un refrigerante, conectores, mangueras) en el cual en el primer balón se colocó agua destilada, en el segundo se colocaron las hojas seleccionadas y secas de orégano, extrayendo así la esencia en los vapores los cuales al llegar al refrigerante toman un estado líquido, para obtener la primera gota el proceso demora 40 minutos aproximadamente, pero a partir de las dos horas se pudo apreciar el aceite esencial.

Repitiendo así el proceso del cual se obtuvo hidrolato y aceite esencial el cual fue separado por medio de una pera de decantación.

4.3.1. Obtención de la cepa bacteriana para el estudio

Se trabajó con una cepa de bacteria estándar de *Porphyromonas gingivalis* (ATCC® 33277™) (American Type Culture Collection), producto que fue brindado por GenLab del Perú SAC, División Microbiología y Cultivo Celular.

Para la reactivación de la cepa bacteriana y posterior cultivo se solicitó el uso de los Laboratorios de la Universidad Católica de Santa María, puesto que nuestra bacteria requería un medio anaerobio estricto.

Se procedió a abrir el empaque donde se encontraba el dispositivo KWIK-STICK (el cual incluye un gránulo liofilizado del microorganismo, una ampolla de líquido hidratante y un hisopo de inoculación), luego se realizó presión sobre la ampolla de líquido hidratante, el cual dejamos que fluya por el mango del hisopo hasta llegar a la parte inferior que posee el granulo, posteriormente se realizó presión en la parte inferior para conseguir que se hidrate el granulo.

Se prepararon tres tubos de ensayo cada uno con 4ml de caldo de cultivo (BHI el cual es especial para microorganismos exigentes ya que es muy nutritivo), en los cuales se inocularon los microorganismos y se llevaron a la incubadora con CO₂ a 37°C por siete días (perfectamente rotulados con la fecha de inoculación).

Al pasar los siete días, se prepararon 21 placas Petri con Agar Sangre (el cual es el indicado para cultivos de *Porphyromonas gingivalis*), se procedió a evaluar el nivel de turbidez de los caldos en los tubos de ensayo mediante la prueba de turbidez de Mcfarland, se escogió el tubo de ensayo con mayor similitud y se procedió a sembrar en una placa de Agar Sangre mediante la técnica de estrías por desgaste con un asa de siembra llevándolo posteriormente a la incubadora junto con los tubos de ensayo por 48 horas, en las que se pudo apreciar la formación de colonias de *Porphyromonas gingivalis*.

4.3.2. Colocación de los discos

Se procedió a preparar los discos de papel filtro esterilizados y embebidos con aceite esencial de *origanum vulgare* al 100%, clorhexidina al 0.12% y suero fisiológico para tener un control de los resultados, posteriormente se retiró los excesos sobre una platina de vidrio y se procedió a refrigerarlas para conservarlas hasta el momento de ser colocados sobre el medio de cultivo

Se realizó la siembra de los microorganismos en las 20 cajas Petri con Agar sangre por medio del método de siembra con asa de Digrafsky, con la finalidad de obtener una siembra más homogénea y así apreciar mejor los halos de inhibición (con una micropipeta estéril se cogieron 200ul del inóculo y posteriormente se distribuyeron homogéneamente por medio del asa), se colocaron los tres discos en cada placa, se sellaron rotularon y llevaron a la incubadora con CO₂ a 37°C.

4.3.3. Recolección de datos

Se realizaron tres controles, el primero a las 24 horas, el segundo a las 48 horas y, finalmente, a las 72 horas, cuyos resultados fueron registrados debidamente. Se midieron los halos de inhibición formados alrededor de los discos con un vernier.

4.3.4. Materiales e instrumentales

- Placas Petri (de plástico esterilizadas).
- Discos de papel filtro
- Hisopos Estériles
- Tubos de ensayo
- Asas de cultivo
- Micro pipeta "BOECO Germany"
- Alcohol
- Encendedor
- Cocina eléctrica
- Agua destilada
- Aluminio
- Matraz
- Pera de decantación
- Equipo de destilación

- Balanza de precisión “Scout Pro”
- Autoclave
- Estufa
- Cámara de Co2 “H.W. Kessel s.a.”
- Medios de cultivo (agar sangre anaerobic, caldo de cultivo BHI)
- Cepa Porphyromona gingivalis ATCC® 33277™
- Origanum Vulgare
- Clorhexidina 0.12%
- Suero Fisiológico
- Agua destilada
- Vernier “Uyustools”
- Mecheros
- Campos descartables
- Guantes
- Cámara fotográfica
- Pinzas
- Computadora e impresora
- Papel

4.4. TÉCNICAS ESTADÍSTICAS PARA EL PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

Los datos fueron registrados en una ficha de recolección de datos de la cual se obtuvo la información para la aplicación de dos pruebas estadísticas. En primer lugar, se vació los resultados obtenidos en una base de datos, para lo cual se utilizó una hoja de cálculo Excel, versión 2016. A partir de esta, se elaboraron tablas, de simple y doble entrada, y gráficos, principalmente de barras.

Dada la naturaleza cuantitativa de nuestra variable respuesta (diámetro del halo de inhibición), se la describió a través del cálculo de medidas de

tendencia central (Media aritmética) y de dispersión (desviación estándar y valores mínimo y máximo).

Para comparar el efecto de los estímulos en los tres tiempos establecidos, se aplicó la prueba estadística de Análisis de Varianza (ANOVA). Además, para establecer diferencias entre los grupos de estudio, se utilizó la prueba estadística t de Student. Cabe resaltar que ambas pruebas estadísticas se han interpretado asumiendo un 95% de confianza, es decir, se acepta como máximo un error de 5% (0.05).

Cabe resaltar que la totalidad del proceso estadístico, tanto descriptivo como inferencial, se llevó a cabo con la ayuda del software EPI – INFO versión 6.0 (OMS – OPS).

4.5. ASPECTOS ÉTICOS

El estudio se realizó en un laboratorio en condiciones controladas, donde no existe compromiso directo con personas más que el investigador, quien fue responsable de respetar todas las reglas de bioseguridad establecidas, solo se trabajaron con cepas bacterianas las cuales se desarrollan en un ambiente anaerobio estricto y requirió el empleo de materiales de laboratorio por lo que no se requiere un consentimiento informado.

La eliminación y manejo de desechos, en este sentido, toma vital importancia, aunque se trabaje con bacterias estrictamente anaerobias, pues se procedió a su eliminación mediante un proceso de esterilización para posteriormente ser desechados sin correr ningún riesgo de perjudicar el medio ambiente ni sus habitantes, respetando así los principios de bioética.

CAPITULO V: ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

5.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO:

TABLA N° 1

**COMPORTAMIENTO DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA DEL ACEITE
ESENCIAL DE ORIGANUM VULGARE AL 100% SOBRE CEPAS DE
*PORPHYROMONAS GINGIVALIS***

Orégano al 100%	Medición		
	24 horas	48 horas	72 horas
Media Aritmética	19.62	20.27	21.57
Desviación Estándar	0.66	1.01	1.06
Halo Inhibitorio Mínimo	18.0	18.0	20.0
Halo Inhibitorio Máximo	21.0	22.0	23.0
Total	20	20	20

Fuente: Matriz de datos

INTERPRETACIÓN:

En la tabla N° 1 mostramos el comportamiento de la actividad inhibitoria del aceite esencial de Origanum Vulgare al 100%, medida a través de los halos de inhibición formados, en tres momentos establecidos que son a las 24, 48 y 72 horas después de su exposición sobre las Porphyromonas Gingivalis.

A las 24 horas, el halo medido correspondió a un promedio de 19.62 mm, a las 48 horas este aumentó hasta alcanzar un valor de 20.27 mm y a las 72 horas de la exposición, el halo llegó a un promedio de 21.57 mm. De acuerdo a los parámetros establecidos para calificar los halos de inhibición, a las 24 horas el halo correspondió a muy sensible y a las 48 y 72 horas fue clasificado como sumamente sensible.

GRÁFICO N° 1

COMPORTAMIENTO DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA DEL ACEITE ESENCIAL DE ORIGANUM VULGARE AL 100% SOBRE CEPAS DE *PORPHYROMONAS GINGIVALIS*

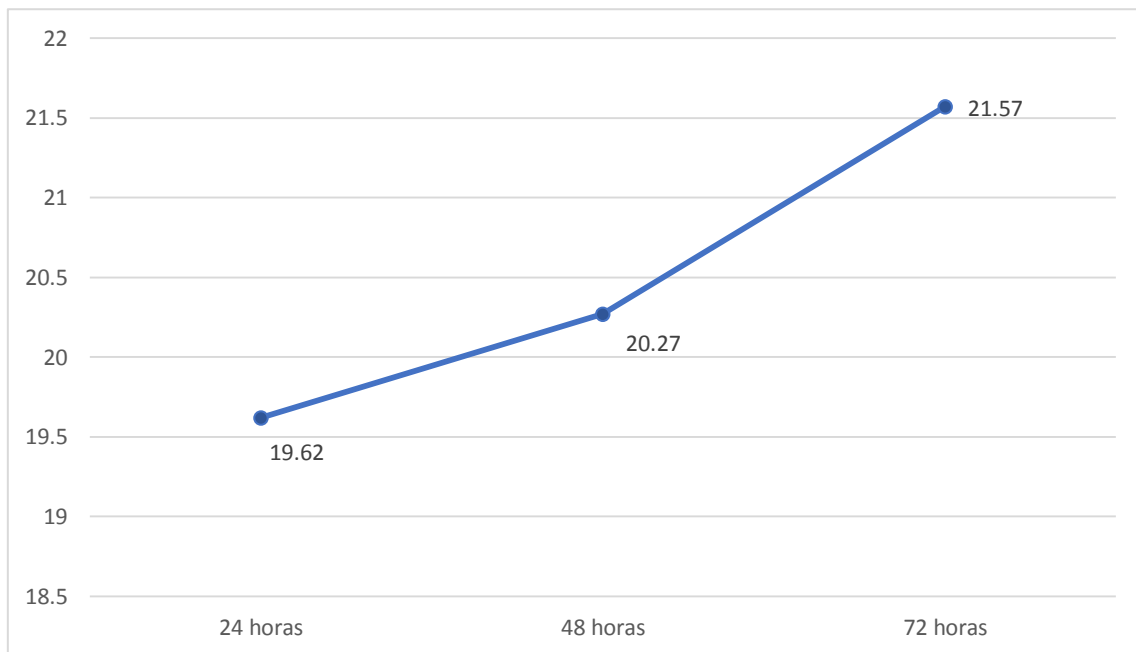


TABLA N° 2
COMPORTAMIENTO DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA DE LA
CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE CEPAS DE *PORPHYROMONAS*
GINGIVALIS

Clorhexidina al 0.12%	Medición		
	24 horas	48 horas	72 horas
Media Aritmética	14.07	14.37	14.75
Desviación Estándar	0.40	0.53	0.57
Halo Inhibitorio Mínimo	13.5	13.5	14.0
Halo Inhibitorio Máximo	15.0	15.0	16.0
Total	20	20	20

Fuente: Matriz de datos

INTERPRETACIÓN:

En la tabla N° 2 se presenta el comportamiento de la actividad inhibitoria de la Clorhexidina al 0.12%, evaluada a través de los halos de inhibición formados, en tres momentos establecidos y estandarizados que son a las 24, 48 y 72 horas después de su exposición sobre las *Porphyromonas Gingivalis*.

A las 24 horas, el halo observado correspondió a un promedio de 14.07 mm, a las 48 horas este aumentó hasta alcanzar un valor de 14.37 mm y a las 72 horas de la exposición, el halo llegó a un promedio de 14.75 mm. Si interpretamos el diámetro de los halos obtenidos de acuerdo a la calificación hecha para tal fin, tanto a las 24 como a las 48 y 72 horas, los halos formados con la Clorhexidina al 0.12% corresponden a muy sensible.

GRÁFICO N° 2

COMPORTAMIENTO DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA DE LA CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE CEPAS DE *PORPHYROMONAS GINGIVALIS*

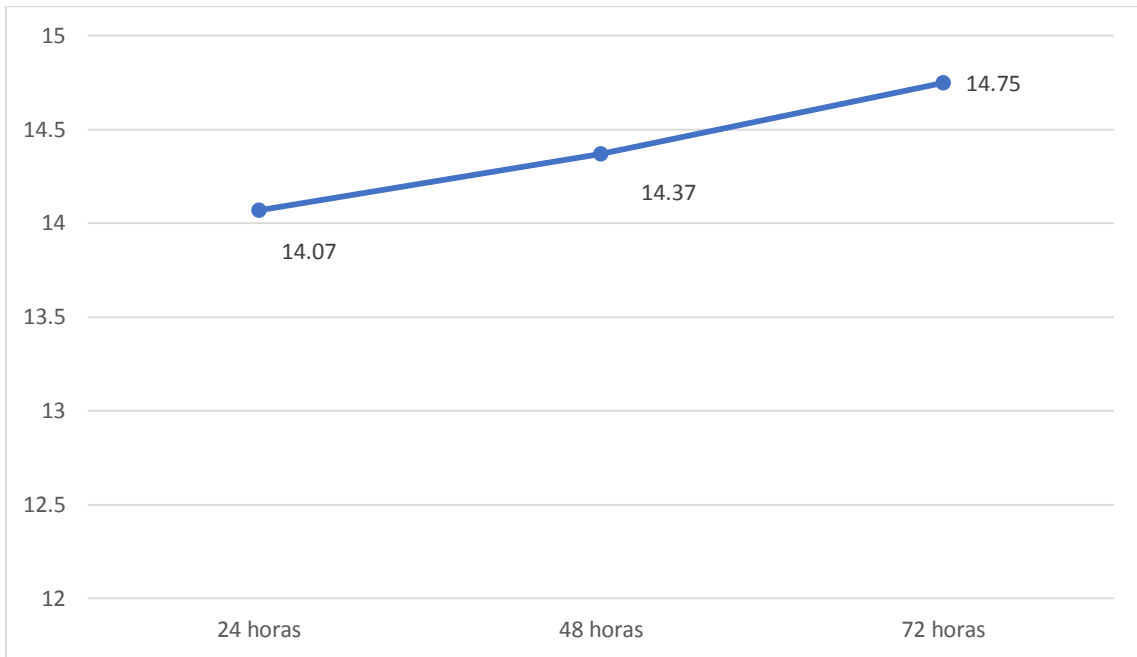


TABLA N° 3

**COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA ENTRE EL ACEITE
ESENCIAL DE ORIGANUM VULGARE AL 100% Y LA CLORHEXIDINA AL
0.12% SOBRE CEPAS DE *PORPHYROMONAS GINGIVALIS* A LAS 24
HORAS**

Halo de Inhibición 24 horas	Grupo de Estudio	
	Aceite Orégano 100%	Clorhexidina 0.12%
Media Aritmética	19.62	14.07
Desviación Estándar	0.66	0.40
Halo Inhibitorio Mínimo	18.0	13.5
Halo Inhibitorio Máximo	21.0	15.0
Total	20	20

Fuente: Matriz de datos

INTERPRETACIÓN:

En la tabla que presentamos, mostramos y comparamos la actividad inhibitoria tanto del aceite esencial de origanum vulgare (orégano) al 100% y la clorhexidina al 0.12% a las 24 horas de su aplicación sobre las *Porphyromonas gingivalis*.

Como se puede apreciar de los resultados obtenidos, para el caso de las *Porphyromonas gingivalis* expuestas al grupo del orégano, el halo inhibitorio formado correspondió a un promedio de 19.62 mm, mientras que, para la clorhexidina, el halo que se obtuvo un valor inferior al primero siendo este, en promedio, de 14.07 mm.

GRÁFICO N° 3

COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA ENTRE EL ACEITE ESENCIAL DE ORIGANUM VULGARE AL 100% Y LA CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE CEPAS DE *PORPHYROMONAS GINGIVALIS* A LAS 24 HORAS

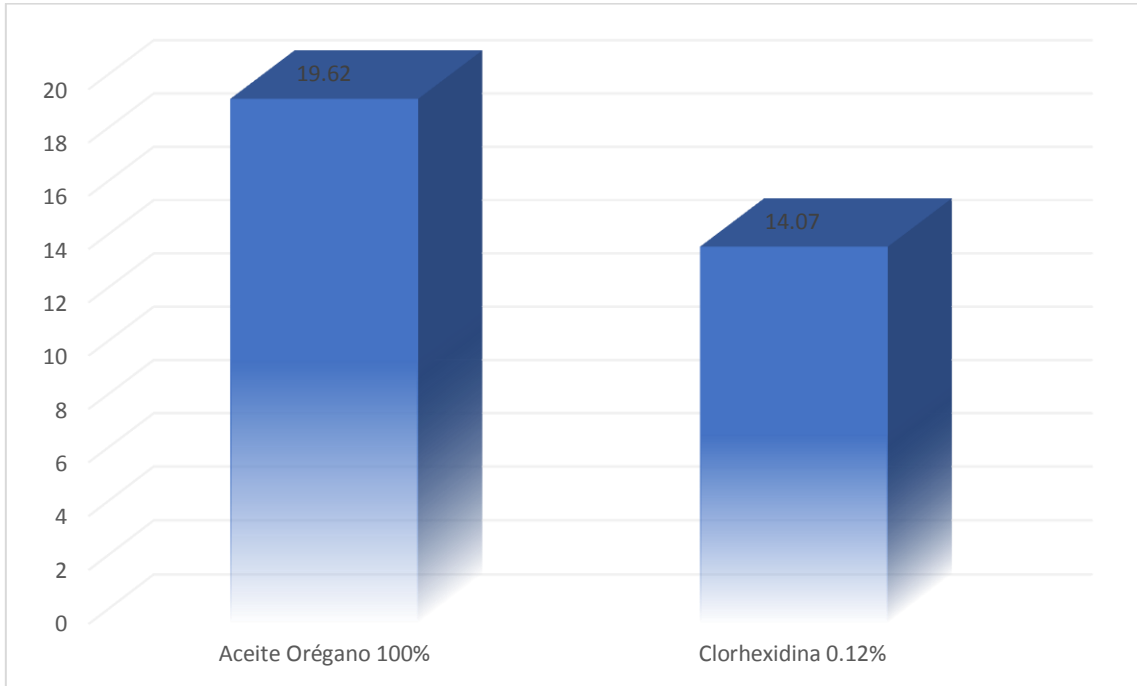


TABLA N° 4

**COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA ENTRE EL ACEITE
ESENCIAL DE ORIGANUM VULGARE AL 100% Y LA CLORHEXIDINA AL
0.12% SOBRE CEPAS DE *PORPHYROMONAS GINGIVALIS* A LAS 48
HORAS**

Halo de Inhibición 48 horas	Grupo de Estudio	
	Aceite Orégano 100%	Clorhexidina 0.12%
Media Aritmética	20.27	14.37
Desviación Estándar	1.01	0.53
Halo Inhibitorio Mínimo	18.0	13.5
Halo Inhibitorio Máximo	22.0	15.0
Total	20	20

Fuente: Matriz de datos

INTERPRETACIÓN:

En los resultados obtenidos y que se muestran en la tabla que presentamos, comparamos la actividad inhibitoria tanto del aceite esencial de origanum vulgare (orégano) al 100% como de la clorhexidina al 0.12% a las 48 horas después de su aplicación sobre las porphyromonas gingivalis.

Los resultados obtenidos nos permiten colegir que, para el caso de las porphyromonas gingivalis expuestas al grupo del orégano, el halo inhibitorio formado correspondió a un promedio de 20.27 mm, mientras que, para la clorhexidina, el halo que se obtuvo fue un valor menor al primero siendo este, en promedio, de 14.37 mm.

GRÁFICO N° 4

COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA ENTRE EL ACEITE ESENCIAL DE ORIGANUM VULGARE AL 100% Y LA CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE CEPAS DE *PORPHYROMONAS GINGIVALIS* A LAS 48 HORAS

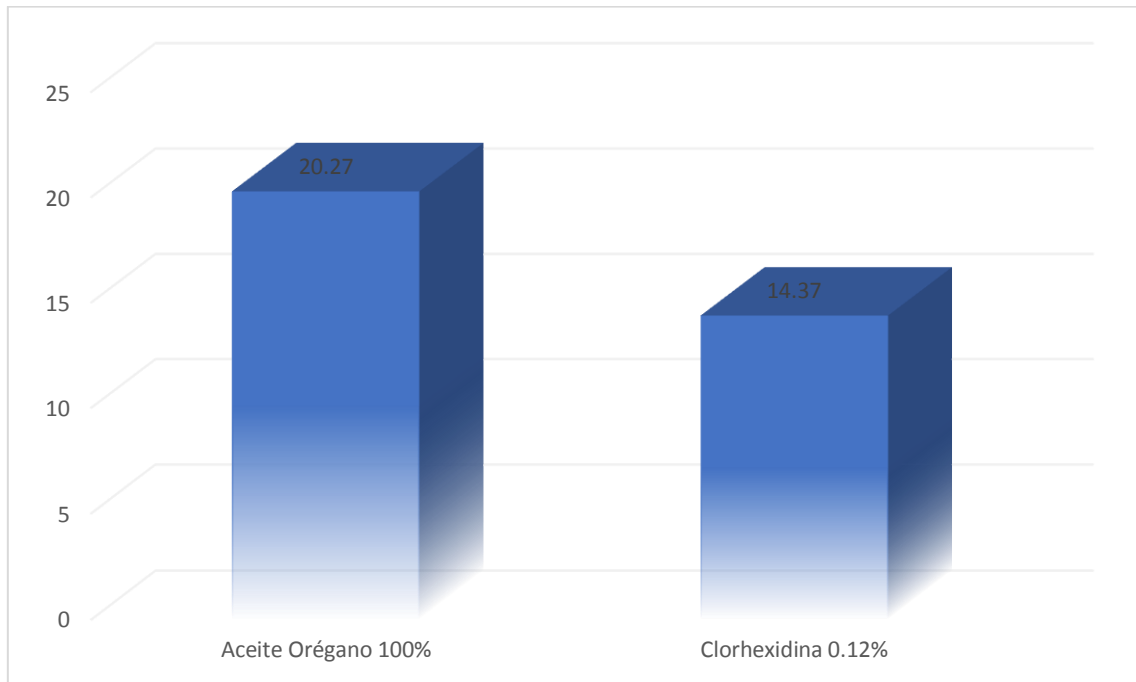


TABLA N° 5

COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA ENTRE EL ACEITE ESENCIAL DE ORIGANUM VULGARE AL 100% Y LA CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE CEPAS DE *PORPHYROMONAS GINGIVALIS* A LAS 72 HORAS

Halo de Inhibición 72 horas	Grupo de Estudio	
	Aceite Orégano 100%	Clorhexidina 0.12%
Media Aritmética	21.57	14.75
Desviación Estándar	1.06	0.57
Halo Inhibitorio Mínimo	20.0	14.0
Halo Inhibitorio Máximo	23.0	16.0
Total	20	20

Fuente: Matriz de datos

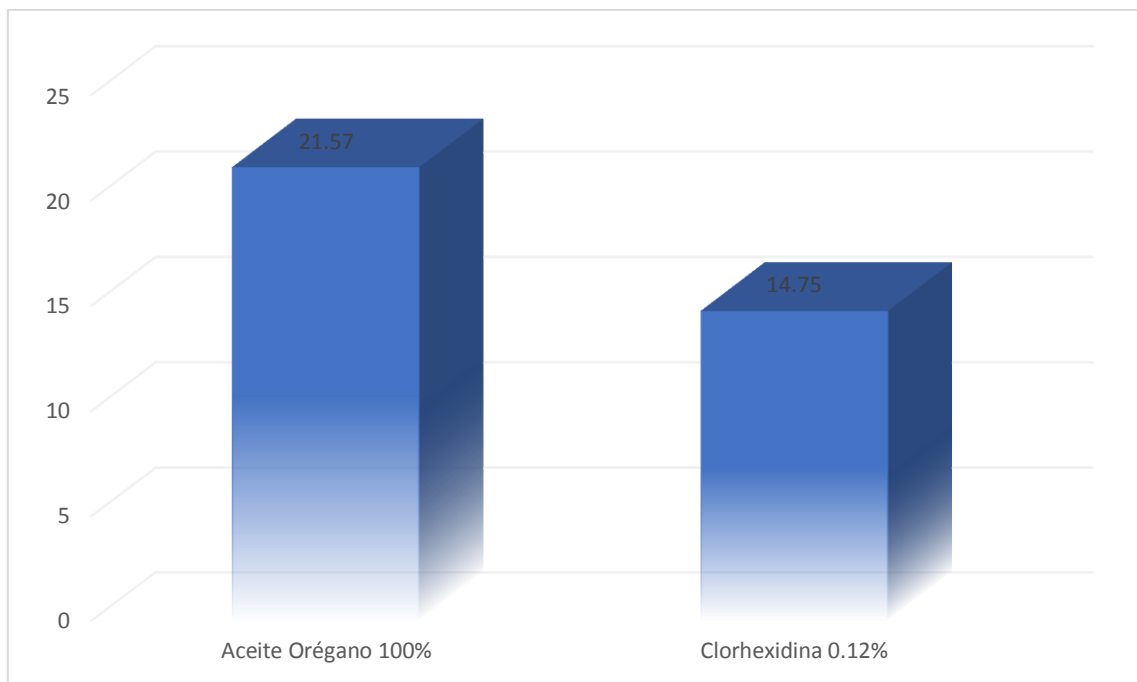
INTERPRETACIÓN:

En la medición llevada a cabo, de la actividad inhibitoria, a las 72 horas de la aplicación del aceite esencial de origanum vulgare (orégano) al 100% y de la clorhexidina al 0.12% sobre las porphyromonas gingivalis, se lleva a cabo su respectiva comparación.

La información a la cual hemos llegado nos permite colegir que, para el caso de las porphyromonas gingivalis expuestas al grupo del orégano, el halo inhibitorio formado correspondió a un promedio de 21.57 mm, mientras que, para la clorhexidina, el halo que se obtuvo fue un valor que estuvo por debajo del primero siendo este, en promedio, de 14.75 mm.

GRÁFICO N° 5

**COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA ENTRE EL ACEITE
ESENCIAL DE ORIGANUM VULGARE AL 100% Y LA CLORHEXIDINA AL
0.12% SOBRE CEPAS DE *PORPHYROMONAS GINGIVALIS* A LAS 72
HORAS**



5.2. ANÁLISIS INFERENCIAL:

TABLA N° 6

PRUEBA DE ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EVALUAR EL COMPORTAMIENTO DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA DEL ACEITE ESENCIAL DE ORIGANUM VULGARE AL 100% Y CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE CEPAS DE *PORPHYROMONAS GINGIVALIS*

ACTIVIDAD INHIBITORIA	Valor Estadístico	Grados de Libertad	Significancia P
Aceite Esencial Origanum Vulgare al 100%	19.717	57	<u>0.000</u> (P < 0.05)
Clorhexidina al 0.12%	1.966	57	0.351 (P ≥ 0.05)

En la evaluación del comportamiento de la actividad inhibitoria, tanto del aceite esencial de origanum vulgare (orégano) al 100% como de la clorhexidina al 0.12% (Tablas N° 1 y 2) sobre las cepas de porphyromonas gingivalis, se aplicó la prueba estadística de análisis de varianza (ANOVA), la cual nos permite establecer si la actividad inhibitoria mejora, o en su defecto no, a través del tiempo en los dos grupos de estudio.

Como se aprecia, según la prueba estadística aplicada, hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas en el grupo expuesto al orégano, es decir, el efecto antibacteriano aumenta con el transcurrir del tiempo, desde las 24 horas, que se hizo la primera medición, hasta las 72 horas donde se realizó la última. En lo que respecta al grupo expuesto a la clorhexidina, no se han encontrado diferencias significativas en las mediciones llevadas a cabo, es decir, la actividad inhibitoria de la clorhexidina se mantuvo igual desde las 24 horas y hasta las 72 horas.

TABLA N° 7

PRUEBA T DE STUDENT PARA COMPARAR LA ACTIVIDAD INHIBITORIA ENTRE EL ACEITE ESENCIAL DE ORIGANUM VULGARE AL 100% Y LA CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE CEPAS DE *PORPHYROMONAS GINGIVALIS* A LAS 24, 48 Y 72 HORAS

ORÉGANO - CLORHEXIDINA	Valor Estadístico	Grados de Libertad	Significancia P
24 horas	1019.71	38	<u>0.000</u> (P < 0.05)
48 horas	525.34	38	<u>0.000</u> (P < 0.05)
72 horas	634.71	38	<u>0.000</u> (P < 0.05)

En la comparación llevada a cabo de la actividad inhibitoria, tanto del aceite esencial de origanum vulgare al 100% como de la clorhexidina al 0.12%, se evaluó los diámetros de los halos de inhibición formados a las 24, 48 y 72 horas (Tablas N° 3, 4 y 5) sobre las cepas de porphyromonas gingivalis, para llevar a cabo este análisis se aplicó la prueba estadística t de Student, la cual nos permite establecer si existen diferencias respecto a los halos formados entre estos dos grupos de estudio.

Como se aprecia, según la prueba estadística desarrollada, hemos encontrado que las diferencias entre los dos halos, del orégano y clorhexidina, fueron significativas en los tres momentos estudiados (24, 48 y 72 horas), es decir, el aceite esencial de origanum vulgare al 100% tuvo un mejor efecto antibacteriano que la clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de porphyromonas gingivalis durante el tiempo que duró la investigación.

5.3 COMPROBACIÓN DE LAS HIPOTESIS

A. HIPÓTESIS PRINCIPAL

Es probable que el aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) al 100% tendrá mayor efecto inhibitorio que el de la clorhexidina al 0.12% frente a cepas de *Porphyromonas gingivalis*.

Regla de Decisión:

Si $P \geq 0.05$	No se acepta la hipótesis.
Si $P < 0.05$	Se acepta la hipótesis.

Conclusión:

Contrastando la hipótesis con los resultados obtenidos (Tablas N° 3, 4 y 5), procedemos a aceptar la primera hipótesis derivada, pues se ha demostrado que el aceite esencial de orégano al 100% tuvo mayor efecto inhibitorio que la clorhexidina al 0.12%, en los tres tiempos evaluados, sobre las cepas de *porphyromonas* gingivales.

B. HIPÓTESIS DERIVADAS

Primera:

Es probable que el aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) al 100% tenga un efecto inhibitorio sumamente sensible sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.

Conclusión:

De acuerdo con los resultados obtenidos en la investigación (Tabla N° 1), procedemos a aceptar nuestra hipótesis principal, pues hemos encontrado que desde las 48 horas de realizada la exposición de las cepas de *Porphyromonas* gingivales a la acción del aceite esencial de orégano al 100%, los diámetros de los halos de inhibición formados en estos tiempos califican como un efecto inhibitorio sumamente sensible.

Segunda:

Es probable que el aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) al 100% tenga igual efecto inhibitorio que la clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.

Conclusión:

De acuerdo a lo observado en la Tabla N° 7, procedemos a rechazar la segunda hipótesis derivada, puesto que el aceite de orégano al 100% demostró tener mayor eficacia inhibitoria sobre las *Porphyromonas gingivalis* que la clorhexidina al 0.12%.

5.4. DISCUSIÓN:

El ser humano desde un inicio siempre ha buscado responder y dar solución a todo tipo de interrogantes, la enfermedad periodontal ha aquejado al ser humano desde el inicio de los tiempos por lo que no tardaron en dar la debida importancia a la higiene oral.

El empleo de remedios con plantas medicinales fue talvez la primera alternativa y aunque al transcurrir del tiempo múltiples productos químicos han tomado mayor valor en cuanto a la terapia que se pueda brindar como es el caso de la clorhexidina, no podemos desmerecer el efecto que un producto natural pueda contribuir.

La medicina natural nos ofrece muy buenos resultados en los tratamientos con talvez una mínima o nula cantidad de efectos adversos, el presente trabajo fue elaborado para demostrar el efecto inhibitorio que pueda tener el aceite esencial de *Origanum Vulgare* al 100% y compararlo con el efecto inhibitorio de la clorhexidina al 0.12% frente a cepas de *Porphyromonas Gingivales*, con la finalidad de dar un indicio para lo que podría ser una nueva alternativa en lo que es el tratamiento de la enfermedad periodontal, ya que este microorganismo es uno de los principales patógenos involucrados en el desarrollo de esta enfermedad.

Siendo la clorhexidina el principal agente antimicrobiano empleado en la terapia periodontal el estudio comparó los halos de inhibición producidos por este con los halos producto del aceite esencial, durante el proceso laboratorial se buscó siempre brindar a la cepa de *Porphyromonas gingivales* un medio óptimo y adecuado para su crecimiento (utilizando una cámara de CO₂ a 37 °C y el medio adecuado para su crecimiento).

Gabriela García obtuvo en su estudio resultados favorables en lo que respecta la aplicación del aceite esencial de *Origanum vulgare* al 100% en cepas de *Porphyromonas G.* consiguiendo así halos de inhibición en promedio de 18.58 mm en el control efectuado a las 24 horas, el presente trabajo demostró que efectivamente existe un resultado positivo obteniendo halos de 19.62 mm a las 24 horas pero también podemos decir que el

efecto inhibitorio del aceite esencial de *Origanum vulgare* al 100% puede alcanzar mejores resultados con el paso del tiempo (ya que se hicieron controles a las 24, 48 y 72 horas), a diferencia de la clorhexidina al 0.12% que nos da un efecto inhibitorio menor (14.07mm a las 24 horas) el cual se mantiene en el tiempo. Además, es importante mencionar que se realizaron correcciones en cuanto al proceso laboratorial efectuado con la finalidad de obtener resultados con mayor veracidad.

En comparación con la tesis que fue desarrollada por Erika Pimentel titulada: Efecto antibacteriano de extractos etanólicos de plantas utilizadas en las tradiciones culinarias andinas sobre microorganismos de la cavidad bucal, podemos observar que se obtuvo mejores resultados en la aplicación del extracto etanólico de *Origanum vulgare* al 100% sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis* ya que los halos en promedio fueron de 25.86 mm frente a los 19.62 mm obtenidos en esta investigación. El estudio también muestra que se obtuvieron buenos resultados en la aplicación del extracto etanólico de *Origanum vulgare* al 100% sobre otras cepas bacterias como es el caso de *Lactobacillus Acidophilus*.

Jorge Villavicencio en su investigación titulada Efecto Antimicótico in vitro de *Origanum vulgare* sobre cepas de *Candida albicans* nos dice que, los resultados mostraron alta actividad antimicótica de todos los aceites esenciales de *Origanum vulgare* a partir de las concentraciones de 12,5 %.

Podemos así decir que el aceite esencial de *Origanum vulgare* nos brinda muy buenos resultados no solo contra cepas de *Porphyromonas gingivalis* sino también contra otros microorganismos de la cavidad bucal como es el caso del *Lactobacillus Acidophilus* y *Candida Albicans*, cabe mencionar que este estudio fue realizado con los mayores cuidados para facilitar el crecimiento microbiano y la mejor observación de los halos de inhibición y con todas las medidas adecuadas para una correcta recolección de datos.

CONCLUSIONES

- PRIMERA** : El aceite de *Origanum vulgare* al 100% demostró tener una mayor capacidad para inhibir in vitro el crecimiento bacteriano de la *Porphyromona Gingivalis* que la clorhexidina al 0.12%, siendo las diferencias encontradas estadísticamente significativas en los tres tiempos sobre los cuales se midió los halos de inhibición.
- SEGUNDA** : El aceite esencial de *Origanum vulgare* al 100% demostró tener un efecto inhibitorio clasificado como muy sensible a las 24 horas y sumamente sensible a partir de las 48 horas.
- TERCERA** : La clorhexidina al 0.12% demostró tener un efecto inhibitorio clasificado como muy sensible a los tres controles
- CUARTA** : El aceite de Orégano (*Origanum vulgare*) a concentraciones del 100% posee la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento bacteriano de la *Porphyromona gingivalis*, la cual mejora con el tiempo, pues empieza con un halo de inhibición de 19.62 mm (24 horas) y termina con un halo de 21.57 mm (72 horas). Las diferencias entre estas mediciones fueron estadísticamente significativas.
- QUINTA** : La clorhexidina al 0.12% demostró tener capacidad para inhibir in vitro el crecimiento bacteriano de la *Porphyromona gingivalis*, sin embargo, su efecto se mantiene en el tiempo, pues de empezar con un halo de inhibición de 14.07 mm (24 horas) termina con uno de 14.75 mm (72 horas), no habiendo diferencias significativas entre estas mediciones.

RECOMENDACIONES

- PRIMERA** : Se recomienda a los estudiantes o egresados de Odontología el uso de este estudio como base para futuras investigaciones in vitro, que permitan establecer el uso de los efectos antimicrobianos que posee el *Origanum vulgare* frente a otros patógenos orales.
- SEGUNDA** : Se recomienda también realizar trabajos de investigación evaluando el efecto del aceite esencial de *Origanum vulgare* en diferentes concentraciones y establecer sus efectos desde un punto de vista clínico.
- TERCERA** : Se sugiere para la extracción del aceite esencial de *Origanum vulgare* utilizar hojas secadas previamente y realizar comparaciones entre las distintas familias de Orégano, incluso de los diferentes ámbitos donde se cultivan, para demostrar si su rendimiento y eficacia frente a diferentes microorganismos varía significativamente.
- CUARTA** : Se recomienda efectuar estudios para lograr determinar la aplicación clínica del aceite esencial de *Origanum vulgare* dentro del plan de tratamiento en la búsqueda de mejores resultados.

FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Newman, T.,C. Periondotología Clínica de Carranza. Onceava Edición ed.; 2014.
2. Horacio, R,, G. Atlas de Odontología Restauradora y Periodoncia Workshop de Cirugía Periodontal para el Practico General– Buenos Aires: Medica Panamericana; 2004.
3. Alarcón RJJ. Director técnico de sanidad vegetal ICA Autor, Plantas aromáticas y medicinales Enfermedades de importancia y sus usos terapéuticos Bogotá; 2011
4. Flemmig TF. Compendio De Periodoncia: Editorial Masson. ; 1995
5. OMS. Organización Mundial de la Salud. [Online].; 2017. Available from: Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs318/es/>.
6. Lindhe , J. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. In 5ª edición T1T2, editor. Buenos Aires: Editorial Médica; 2011.
7. Ramos, Perfecto D. MNHMCE. Porphyromonas gingivalis: patógeno predominante en periodontitis crónica.. In.: Odontología San Marquina; 2011.
8. Bascones A.. Actinobacillus Actinomycetemcomitans y Porphyromonas Gingivales como principales patógenos periodontales.. In.: Avances en Periodoncia e Implantología Oral. ; 2000.
9. Americam academy of periodontology. [Online]. Available from: <https://www.perio.org/>.Periodontal disease is a leading cause of toothloss and may be associated with other chronic diseases, including diabetes and heart disease.
10. Orrego,C.,P. Porphyromonas gingivalis y enfermedades sistémicas. In.; 2015.

11. Rivero, E.,S. Manual de periodoncia; Universidad Nacional Mayor de San Marcos 2009.
12. Peña, A. Medicina alternativa: intento de análisis. In Medicina Fd, editor: UNMSM.; 2007.
13. Francisco, K. Fitoterapia una opción para el tratamiento odontológico. Saúde. R, editor.; 2010.
14. Martínez, A. Aceites Esenciales. Facultad Química Farmacéutica ed. Medellín; 2003.
15. Reyes, Jurado F. PE,LMA. Vapores de aceites esenciales: alternativa de antimicrobianos naturales Temas selectos de Ingeniería de Alimentos; 2012.
16. Bastos,O. Actividad antimicrobiana de aceite esencial de Origanum vulgare L. ante bacterias aisladas en leche de bovino. Medicinales RCdP, editor.; 2011.
17. García Chanataxi Gabriela Alexandra. Efecto inhibitorio del aceite esencial de Origanum vulgare (ORÉGANO) en cepas de Porphyromonas gingivalis. Estudio in vitro; Universidad Central de Ecuador 2017
18. Mejía, E. El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. : Archivos Latinoamericanos de Nutrición; 2004.
19. Villavicencio Jorge. Efecto Antimicótico in vitro de Origanum vulgare sobre cepas de Candida albicans. : Odontología Sanmarquina. ; 2016.
20. Salgado, M. Efecto Insecticida de Metabolitos Secundarios de Orégano. Herbst ed.; 2012.
21. Castillo, G. Manual de Fitoterapia. MSI. 2nd ed. Barcelona: Elsevier; 2016.
22. Pimentel Ramírez Erika. Efecto antibacteriano de extractos etanolicos de plantas utilizadas en las tradiciones culinarias andinas sobre microorganismos de la cavidad bucal; Rev Estomatol Herediana. 2015

ANEXOS


ANEXO 1: INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

REPETICIONES	HALOS DE INHIBICION EN CEPAS DE PORPHYROMONAS GINGIVALIS (mm)								
	ACEITE ESENCIAL DE OREGANO AL 100%			CLORHEXIDINA AL 0.12%			SUERO FISIOLÓGICO		
	24 HORAS	48 HORAS	72 HORAS	24 HORAS	48 HORAS	72 HORAS	24 HORAS	48 HORAS	72 HORAS
PLACA 1									
PLACA 2									
PLACA 3									
PLACA 4									
PLACA 5									
PLACA 6									
PLACA 7									
PLACA 8									
PLACA 9									
PLACA 10									
PLACA 11									
PLACA 12									
PLACA 13									
PLACA 14									
PLACA 15									
PLACA 16									
PLACA 17									
PLACA 18									
PLACA 19									
PLACA 20									

ANEXO 2: MATRIZ DE DATOS

REPETICIONES	HALOS DE INHIBICION EN CEPAS DE PORPHYROMONAS GINGIVALIS (mm)								
	ACEITE ESENCIAL DE OREGANO AL 100%			CLORHEXIDINA AL 0.12%			SUERO FISIOLOGICO		
	24 HORAS	48 HORAS	72 HORAS	24 HORAS	48 HORAS	72 HORAS	24 HORAS	48 HORAS	72 HORAS
PLACA 1	19.5	20	22	14	14	15	0	0	0
PLACA 2	19.5	20	20	14	14	15	0	0	0
PLACA 3	19.5	20.5	21	14	14.5	14.5	0	0	0
PLACA 4	20	20	20.5	14	14	14	0	0	0
PLACA 5	19	19.5	20	14	14.5	15	0	0	0
PLACA 6	19.5	19.5	21	13.5	13.5	14	0	0	0
PLACA 7	19	19.5	21	13.5	13.5	14	0	0	0
PLACA 8	19	20.5	20	14.5	15	14	0	0	0
PLACA 9	20	20	22	14.4	15	14	0	0	0
PLACA 10	18	18	20	14	14.5	14	0	0	0
PLACA 11	19.5	20	22	14.5	15	15	0	0	0
PLACA 12	19.5	20	22	14.5	15	16	0	0	0
PLACA 13	20	20	22	14	14	15.5	0	0	0
PLACA 14	21	22	23	13.5	14	15	0	0	0
PLACA 15	20	22	22	14	15	15	0	0	0
PLACA 16	21	22	22	14.5	15	15	0	0	0
PLACA 17	19.5	20	23	15	15	15	0	0	0
PLACA 18	19.5	20	22	14	14	15	0	0	0
PLACA 19	20	22	23	13.5	14	15	0	0	0
PLACA20	19.5	20	23	14	14	15	0	0	0

ANEXO 3: SOLICITUD PARA AUTORIZACIÓN PARA USAR EL LABORATORIO DE LA UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS.


UAP UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS
 FILIAL AREQUIPA

003 - 0453967

SOLICITO: Laboratorio para desarrollo de proyecto de tesis

SEÑOR: Alexandra Fernandez Gambairui

Humari APELLIDO PATERNO Castillo APELLIDO MATERNO Naida Evelyn NOMBRES

Documento de Identidad: 72613810 Carrera Profesional: Estomatología
 (DNI, L.M Boleta)

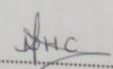
Código: 2009174536 Ciclo: Turno:

Teléfono: 054-441729 E-mail: naida-29-19@hotmail.com

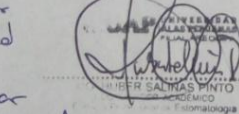

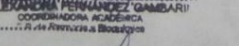
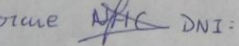
Ante Ud. con el debido respeto me presento y expongo:
Que requiero utilizar los laboratorios de la Universidad con el fin de desarrollar mi proyecto de investigación los días entre el 21-05-18 al 31-05-18

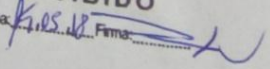
Agradeciendo anticipadamente su atención, quedo de Usted.


Ing. Elmer, Ing. Edith
 Siroense evaluar la disponibilidad de los laboratorios para poder facilitar Adjunto: a la expedido.

Atentamente,


Arequipa, 14 de Mayo del 2018.

1. 
 2. 
 3. 
 4. 

RECIBIDO
 Fecha: 15.05.18 Firma: 

Recibi conforme  DNI: 72613810

AREQUIPA: Mza. G. Lote 14 Cooperativa Daniel A. Carrión Arequipa Telf.: (054) 431-051
 LIMA: Av. San Felipe N° 1109 - Jesús María, Lima - Perú. Teléfono: 266-0195, 470-0953 Fax: 470-9838
 Website: <http://www.uap.edu.pe> E-mail: webmaster@uap.edu.pe

INFORME DE USO DE REQUERIMIENTO DE MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS

003 - 0027545

PROGRAMA PROFESIONAL: Estomatología
DOCENTE: Waida Humari Castro
TEMA : _____
HORA : 8am - 3pm LABORATORIO: L-305

Arequipa	DÍA	MES	AÑO
	22	09	18


TEM	CANT.	DESCRIPCIÓN	UNIDAD DE MEDIDA	SALIDA	INGRESO	ESTADO	
						B	M
01	1	equipo de destilación		✓	✓		P carb
02	3	sapones universales		✓	✓		
03	1	medidor salmometer 250ml Boro		✓			sin usar
04	1	balanza		✓	✓		
05	1	cocina		✓	✓		
06	1	balanza 250ml		✓	✓		
07	1	trípode		✓	✓		
08	1	probeta 250ml		✓	✓		
09	1	malla de asbesto		✓	✓		
10	2	pinzas de bulb		✓	✓		
11	1	detonante		✓	✓		
12	2	escolillas		✓	✓		
13	3	pinzas c/ mango		✓	✓		
14	1	receptor		✓	✓		
15							
16							
17							
18							
19							
20							
21							
22							
23							
24							
25							

OBSERVACIONES: _____

P = sin
E =
R =

Vº Bº DIRECTOR RESPONSABLE JEFE LABORATORIO

ANEXO 4: SOLICITUD PARA AUTORIZACIÓN PARA USAR EL LABORATORIO DE LA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA.


UCSM- 2018430908491

UNIVERSIDAD CATOLICA DE "SANTA MARIA"
Vice Rectorado Administrativo

----- Formato N° 004

Formato obligatorio para trámites

SOLICITO: Autorización para
utilización de Laboratorio

SEÑORA:
JESUS MARIA ZAMBRANO
COORDINADORA DE LABORATORIOS Y GABINETES
UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA

Yo, NAIDA EVELYN HUMARI CASTILLO,
Bachiller de Estomatología de la Universidad Alas
Peruanas, identificada con el D.N.I. 72613810,
ante usted con el debido respeto me presento y
expongo:

Que, con la finalidad de realizar mi trabajo de investigación para elaborar mi tesis
titulada: **Efecto Inhibitorio del Aceite Esencial de *Origanum vulgare* en cepas de
Porphyromonas Gingivalis. Estudio in vitro. UAP FILIAL AREQUIPA – 2018**, es que
solicito a usted se me autorice utilizar el laboratorio, para hacer mi investigación
respectiva.

POR LO EXPUESTO: pido a usted acceder a mi
petición por ser de necesidad personal.

Agradeciendo anticipadamente su atención.

ADJUNTO: Recibo de pago.

Arequipa, 05 de Junio del 2018

Naida Evelyn Humari Castillo
D.N.I. 72613810



Universidad Católica de Santa María
 Oficina de Tesorería
 Urbanización San José s/n Umacollo
 Arequipa - Arequipa - Arequipa
<http://www.ucsm.edu.pe> (054)382038 ucsm@ucsm.edu.pe

RUC 20141637941
**BOLETA DE VENTA
 ELECTRONICA**
 B005-00000084

SEÑOR (ES) : HUMARI CASTILLO, NAIDA EVELYN

FECHA : 2018/06/04

DIRECCION : AMPLIACION PAMPAS DEL CUZCO AVDA.TAHUANTINSUYO M 26 HUNTER CONDIC. : EFECTIVO

R.U.C. : 72613810

MONEDA : PEN

Cant.	Unidad	Descripción	P.Unitario	P.Total
1.00	UNIDAD	USO LABORATORIO ALUMNOS OTRAS INSTITUCIONES CORRESPONDIENTE A LAS SRTA. ALUMNA HUMARI CASTILLO NAIDA EVELYN DETERMINADO EL TIEMPO Y HORARIO POR LA COORDINACION DE LABORATORIOS	300.000000	300.00


 Universidad Católica de Santa María
 Tesorería
7 04 JUN. 2018
RECIBIDO

SON: TRESCIENTOS CON 00/100 SOLES

S/ 300.00

Esta es una representación impresa de la BOLETA DE VENTA ELECTRONICA generada desde el sistema facturador SUNAT. Puede verificarla utilizando su clave SOL

Universidad Católica de Santa María es Agente de Retención RS. 228-2012 SUNAT
 Cta.Cte. S/ 215-0075832-0-95 BCP CCI S/ 002-215-000075832095-26
 Cta.Cte. US\$ 215-0075834-1-25 BCP CCI US\$ 002-215-000075834125-29
 Punto:TESO2 Operador:29246425

ANEXO 5: CONSTANCIA DE HABER DESARROLLADO EL PROYECTO DE TESIS.



Universidad Católica de Santa María

(51 54) 382038 Fax:(51 54) 251213 ✉ ucsm@ucsm.edu.pe 🌐 http://www.ucsm.edu.pe Apartado:1350

AREQUIPA - PERÚ

CONSTANCIA ESPECIAL N°007-Coord.Lab-2018

LA QUE SUSCRIBE COORDINADORA DE LABORATORIOS DE LA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA, DEJA CONSTANCIA QUE LA SEÑORITA:

HUMARI CASTILLO NAIDA EVELYN

INSTITUCIÓN: UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS - AREQUIPA.

HA DESARROLLADO EL PROYECTO DE TESIS, TITULADO:

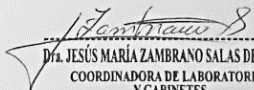
“EFECTO INHIBITORIO DEL ACEITE ESENCIAL DE ORIGANUM VULGARE EN CEPAS DE PORPHYROMONAS GINGIVALIS. ESTUDIO IN VITRO UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS FILIAL AREQUIPA - 2018”

PERIODO : del 06 de junio al 06 de julio del año 2

018.

SE EXPIDE LA PRESENTE CONSTANCIA A SOLICITUD EXPRESA, Y PARA LOS FINES QUE CONVENGA.

Arequipa, 2018.08.14.


Dra. JESÚS MARÍA ZAMBRANO SALAS DE CALLE
COORDINADORA DE LABORATORIOS
Y GABINETES
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

JM2S/CLyG
rtr

ANEXO 6: CERTIFICADO DE ANÁLISIS: ESPECIFICACIÓN Y RENDIMIENTO DEL MICROORGANISMO LIOFILIZADO TRAS LA LIBERACIÓN.

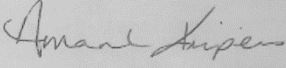


Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Porphyromonas gingivalis Catalog Number: 0912 Lot Number: 912-63** Reference Number: ATCC® 33277™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2018/12/31 Release Information: Quality Control Technologist: Tracy A Blenker Release Date: 2017/3/6
---	--

Performance	
Macroscopic Features: Small, circular, transparent colonies that become brown with age.	Medium: A/R SBAP
Microscopic Features: Gram negative rod, pleomorphic bacillary to coccoid forms.	Method: Gram Stain (1)

ID System: MALDI-TOF
 See attached ID System results document.


 Amanda Kuperus
 Quality Control Manager
 AUTHORIZED SIGNATURE

**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



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

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.



ANEXO 7: INFORMACIÓN DE CEPA BACTERIANA



Gen Lab del Perú S.A.C
 Jr. Capac Yupanqui N°. 2434
 Lince - Lima - Perú
 Central Telefónica
 (61-1) 203-7500, (61-1) 203-7501
 Email : ventas@genlabperu.com
 Web Site : www.genlabperu.com

RUC N°:20501262260
FACTURA
ELECTRONICA
F001-000223

Page 1 of 1

Fecha emisión : 24/05/2018	Orden Compra:
Fecha Vcto : 24/05/2018	Gula de Remisión :
Cliente: UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS S.A.	N° Pedido : 019396
Dirección: AV. SAN FELIPE NRO. 1109 JESUS MARIA - LIMA - LIMA - Peru	Tipo Movimiento : ANTICIPOS
RUC : 20303063766	
Lugar de destino :	

Código	Descripción	Cant	UM	Precio Unit.	Desc	Sub-Total
H04686-A	Porphyromonas gingivalis derived from ATCC® 33277™ Lote: Vcto:	1	UND	327.88	0.00	327.88

TRESCIENTOS OCHENTA Y SEIS CON 90/100 SOLES



Op. Gravada	S/.	327.88
IGV 18%		59.02
Importe Total	S/.	386.90

Representación impresa de la Factura Electrónica
 Consulte : <http://ope.genlabperu.com>

Observaciones de SUNAT :

La Factura numero F001-000223, ha sido aceptada

Despues de Vencido el plazo de cancelacion, se recargará el interes legal correspondiente.

Servanse Realizar el Deposito Respectivo a las Siguietes Ctas Bancarias:

BCP Soles 133-1440607-0-34

BBVA Soles 0011-0139-0100024183-34



KWIK-STIK™, KWIK-STIK™ Plus, Lab-Elite™ CRM and UV-BioTAG™ Swab Hydrating Fluid

SECCIÓN 1: IDENTIFICACIÓN

KWIK-STIK™, KWIK-STIK™ Plus, Lab-Elite™ CRM and UV-BioTAG™ Swab Hydrating Fluid

Microbiologics, Inc.
200 Cooper Avenue North
St. Cloud, Minnesota 56303 USA
320-253-1640

SECCIÓN 2: INSTRUCCIONES SOBRE RIESGOS

Clasificación según los Sistemas Generales de Salud: Irritante para los ojos (Categoría 2)

Palabra indicadora: Advertencia

Pictograma:



Indicación de Peligro: H319: Causa irritación grave a los ojos.

Notas de Advertencia:

P264: Lávese bien las manos después de manipularlo.

P280: Use protección para las manos, el cuerpo, los ojos y el rostro.

EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuague bien con agua durante varios minutos. Retírese las lentillas si usa y no le resulta difícil y continúe enjuagando. Si persiste la irritación: Busque atención médica.

Punto de Ebullición: N/A

Presión de Vapor: N/A

Densidad de Vapor: N/A

Solubilidad en Agua: N/A

Gravedad Específica: N/A

Porcentaje de Volatilidad: N/A

Tasa de Evaporación: N/A

Clasificación según los Sistemas de Identificación de Materiales Peligrosos: Riesgos para la Salud: 2
Inflamabilidad: 0
Riesgos Físicos: 0

Recommended Culture Methods for Microorganisms

Selection of Growth Requirements

1. Primary growth on a nonselective agar medium is preferred. Primary growth in a fluid medium should only occur in special instances or when recommended. Because of the manipulations required during hydration, it is difficult to obtain purity of a lyophilized strain in a fluid medium. A contaminant may completely overgrow and obscure the presence of the lyophilized strain.
2. The following information lists which method should be used to grow the various microorganism species. Descriptions of methods follow the microorganism list.

Microorganism	Method	Notes
<i>Acetobacter</i> species	Method 36	
<i>Achromobacter</i> species	Method 1	
<i>Acinetobacter</i> species	Method 1	
<i>Actinobacillus</i> species	Method 3	
<i>Actinomyces</i> species	Method 4	
<i>Aerococcus</i> species	Method 1	
<i>Aeromonas</i> species	Method 2	Exceptions are <i>Aeromonas hydrophila</i> , Microbiologics 0870 and <i>Aeromonas salmonicida</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i> , Microbiologics 0870	Method 31	
<i>Aeromonas salmonicida</i>	Method 32	
<i>Aggregatibacter</i> species	Method 3	
<i>Alcaligenes</i> species	Method 1	
<i>Alicyclobacillus</i> species	Method 12	An exception is <i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> ,
<i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i>	Method 45	
<i>Alloiooccus</i> species	Method 2	
<i>Alternaria</i> species	Method 5	
<i>Amylomyces</i> species	Method 5	
<i>Aneurinibacillus</i> species	Method 1	
<i>Aquaspirillum</i> species	Method 20	
<i>Arcanobacterium</i> species	Method 34	
<i>Arthrobacter</i> species	Method 21	
<i>Aspergillus</i> species	Method 5	An exception is <i>Aspergillus flavus</i> .
<i>Aspergillus flavus</i>	Method 46	
<i>Aureobasidium</i> species	Method 5	
<i>Bacillus</i> species	Method 49	
<i>Bacteroides</i> species	Method 4	An exception is <i>Bacteroides ureolyticus</i> .
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	Method 38	
<i>Bifidobacterium</i> species	Method 4	An exception is <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>animalis</i> .
<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>animalis</i> .	Method 39	
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	Method 15	

<i>Pediococcus damnosus</i>	Method 55	
<i>Penicillium</i> species	Method 5	
<i>Peptoniphilus</i> species	Method 42	
<i>Peptostreptococcus</i> species	Method 4	
<i>Plesiomonas</i> species	Method 1	
<i>Pluralibacter gergoviae</i>	Method 1	
<i>Porphyromonas</i> species	Method 43	
<i>Prevotella</i> species	Method 43	
<i>Propionibacterium</i> species	Method 44	
<i>Proteus</i> species	Method 1	An exception is <i>Proteus hauseri</i> .
<i>Proteus hauseri</i>	Method 27	
<i>Prototheca</i> species	Method 5	
<i>Providencia</i> species	Method 1	
<i>Pseudomonas</i> species	Method 1	Exceptions are <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Microbiologics 0484, <i>Pseudomonas benneri</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Pseudomonas fragi</i> , <i>Pseudomonas protogens</i> , <i>Pseudomonas mosselii</i> , <i>Pseudomonas putida</i> , and <i>Pseudomonas</i> species, Microbiologics 0162.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , Microbiologics 0484	Method 28	
<i>Pseudomonas brenneri</i>	Method 21	
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Method 21	
<i>Pseudomonas fragi</i>	Method 21	
<i>Pseudomonas mosselii</i>	Method 21	
<i>Pseudomonas protogens</i>	Method 21	
<i>Pseudomonas putida</i> , Microbiologics 0627 and 0702	Method 22	
<i>Pseudomonas</i> species, Microbiologics 0162	Method 22	
<i>Ralstonia</i> species	Method 1	An exception is <i>Ralstonia pickettii</i> , Microbiologics 01197.
<i>Ralstonia pickettii</i> , Microbiologics 01197	Method 29	
<i>Raoultella</i> species	Method 1	
<i>Rhizopus</i> species	Method 5	
<i>Rhizobium radiobacter</i>	Method 21	
<i>Rhodococcus</i> species	Method 2	
<i>Rhodotorula</i> species	Method 5	
<i>Saccharomyces</i> species	Method 50	
<i>Salmonella</i> species	Method 1	
<i>Scopulariopsis</i> species	Method 5	
<i>Serratia</i> species	Method 1	
<i>Shewanella</i> species	Method 1	Exceptions are <i>Shewanella halotis</i> and <i>Shewanella putrefaciens</i> .
<i>Shewanella halotis</i>	Method 74	
<i>Shewanella putrefaciens</i>	Method 75	

Method 42

Media	Anaerobic Blood Agar
Temperature	35°C
Atmosphere	Anaerobic
Growth Time	3 to 4 days

Method 43

Media	Anaerobic Blood Agar
Temperature	35°C
Atmosphere	Anaerobic
Growth Time	5 to 7 days

Method 44

Media	Anaerobic Blood Agar
Temperature	35°C
Atmosphere	Anaerobic
Growth Time	3 to 5 days

Method 45

Media	Potato Dextrose Agar
Temperature	45°C
Atmosphere	Aerobic
Growth Time	24 to 48 hours

Method 46

Media	Sabouraud Dextrose Emmons Agar
Temperature	25°C
Atmosphere	Aerobic
Growth Time	2 to 7 days

Note: Nonselective Sheep Blood Agar is an appropriate alternative.

Note: Nutrient Agar, Tryptic Soy Agar, and Potato Dextrose Agar are appropriate alternatives together with an additional period (24 hours) of incubation.

Method 47

Media	Sabouraud Dextrose Emmons Agar or Malt Extract Agar
Temperature	25°C
Atmosphere	Aerobic
Growth Time	2 to 7 days

Method 48

Media	Potato Dextrose Agar
Temperature	25°C
Atmosphere	Aerobic
Growth Time	7 days

ANEXO 8: SECUENCIA FOTOGRÁFICA



Cultivos de orégano en Pedregal-Arequipa, forma de riego por goteo



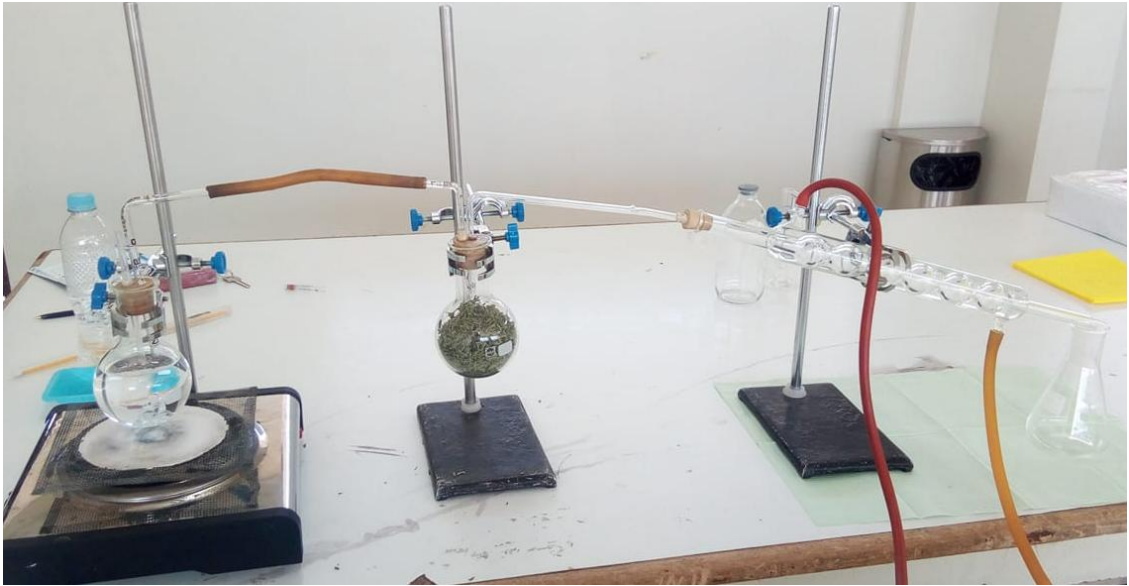
Orégano listo para su cosecha y explotación Arequipa en uno de los principales productores en América Latina



Selección de orégano para su secado y posterior elaboración del aceite esencial



Hojas de orégano secas, siendo pesadas para pasar por el proceso de destilación y así obtener el aceite esencial



Equipo de destilación armado, proceso por el cual obtendremos el aceite esencial, el primer balón se encuentra expuesto directamente al calor de una cocina eléctrica, el refrigerante posee dos mangueras de las cuales la primera permite el ingreso de agua y el segundo expulsa el agua.



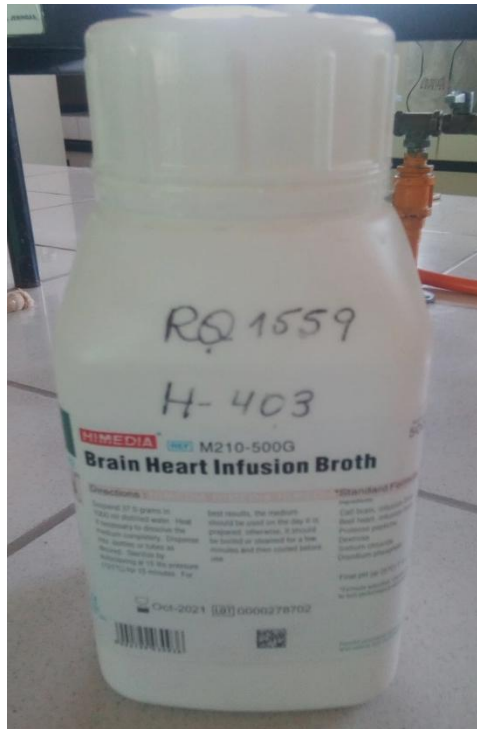
Aceite esencial obtenido después de varias repeticiones del proceso.



Sobre que contiene el dispositivo KWIK-STICK el cual porta las cepas bacterianas de porphyromonas gingivalis.



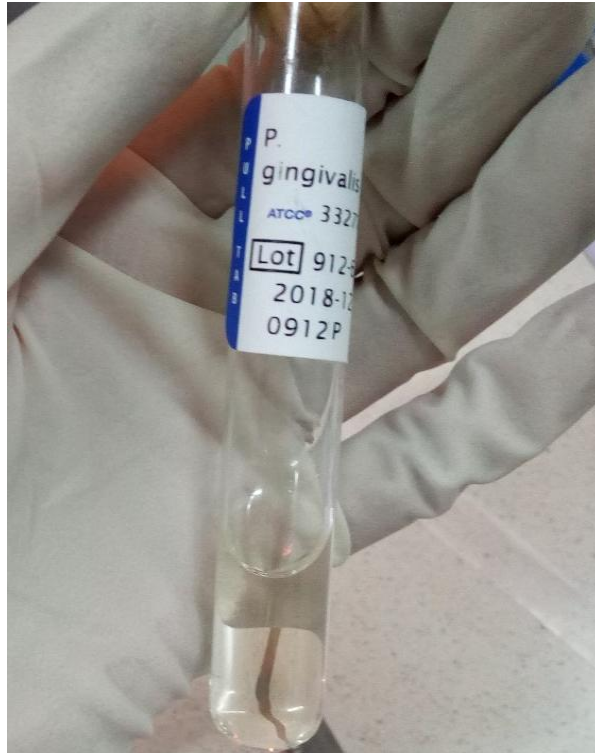
Dispositivo KWIK-STICK el cual consta de una ampolla con lubricante, un hisopo, cepas bacterianas.



Caldo de cultivo BHI generalmente utilizado para bacterias exigentes por ser altamente nutritivo.



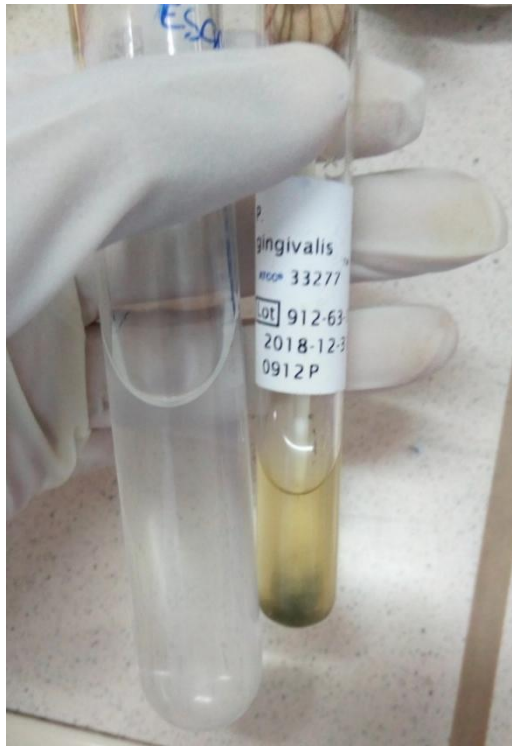
Caldo de cultivo preparado y sometido a la autoclave en donde se activarán las cepas bacterianas.



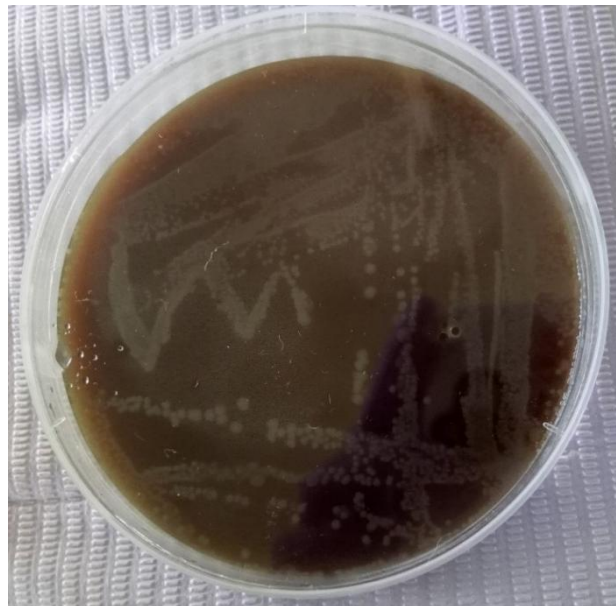
Primer tubo de ensayo con la inoculación de la cepa bacteriana el cual fue rotulado.



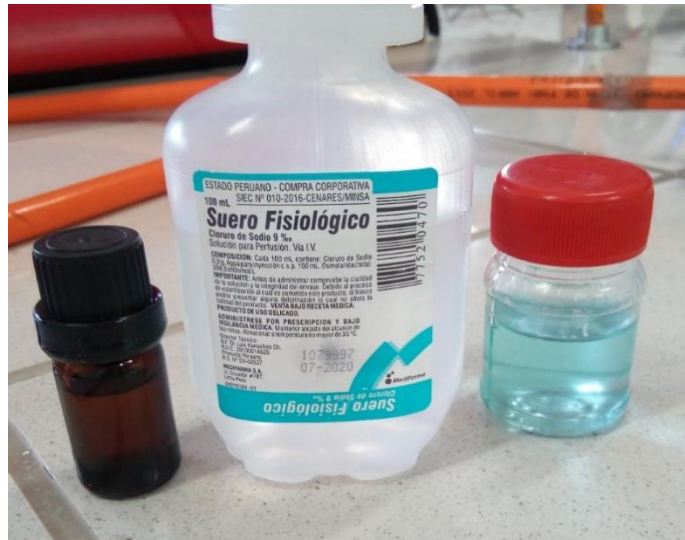
Cámara de anaerobiosis a una temperatura de 37° C, donde se colocarán las muestras y cultivos para el correcto desarrollo de la bacteria.



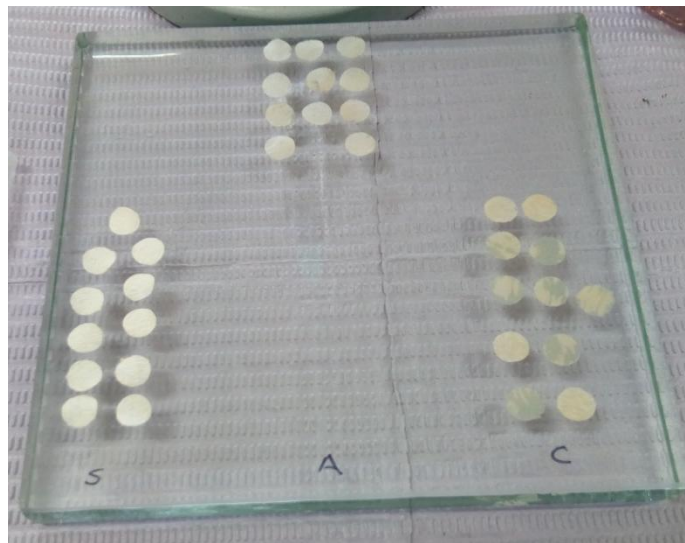
Cepa bacteriana activa y sometida a la escala de turbidez de McFarland



Primera siembra de Porphyromonas G. en agar sangre, técnica de estrías con asa simple



Aceite esencial, Suero fisiológico, Clorhexidina para la preparación de los discos



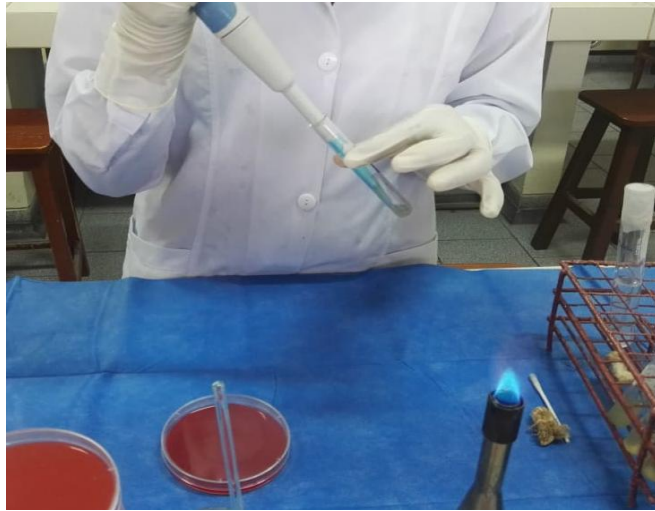
Discos de papel filtro esterilizados, empapados y listos para ser secados para colocarlos en cada una de las muestras



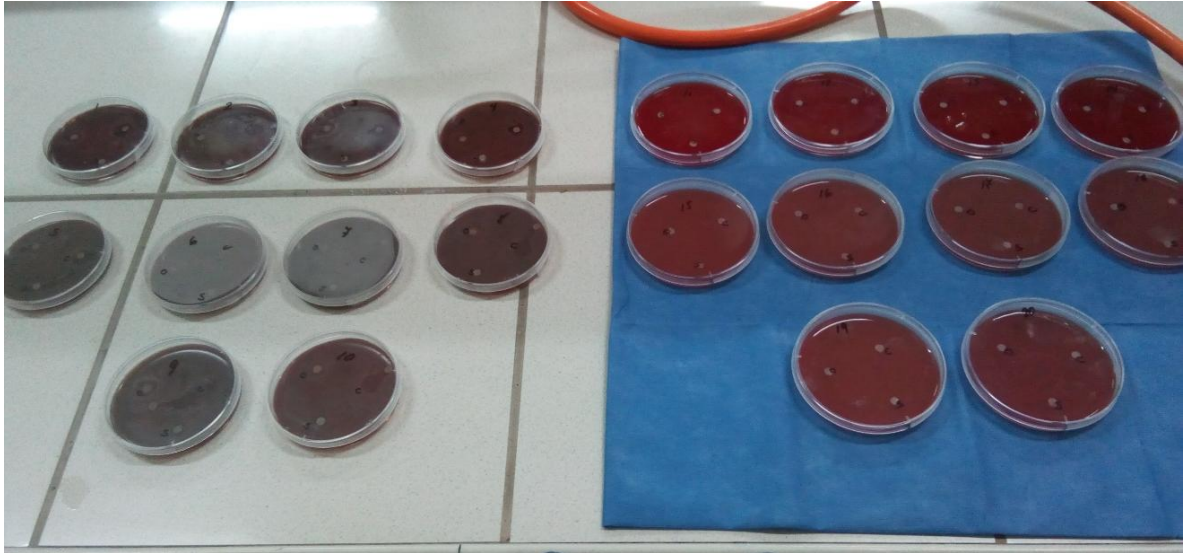
Base de Agar sangre el cual debe mezclarse con agua destilada y con sangre para poder plaquearlo.



Agar sangre en Placas Petri listo para la siembra de las bacterias



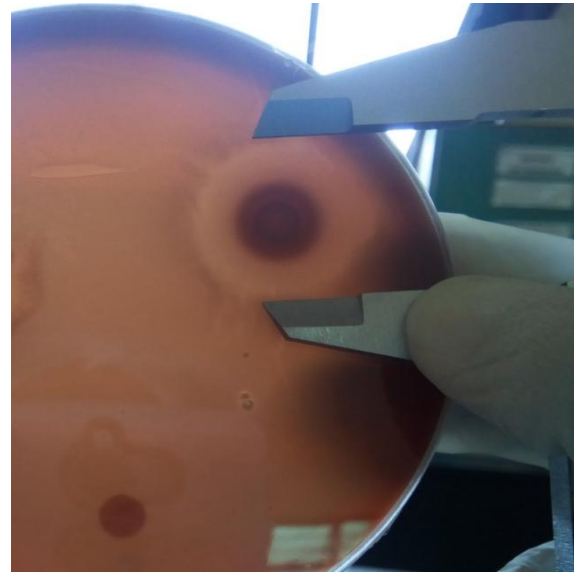
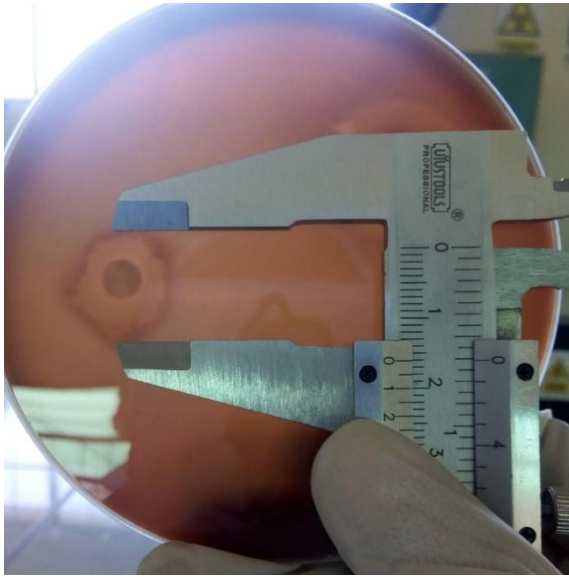
Siembra de *Porphyromonas G.* con asa de Digrafsky para tener una siembra homogénea.



Muestras con la siembra, los discos, de los cuales la mitad ya lleva 24 horas.



Halos de inhibición hacia arriba el correspondiente al aceite esencial de orégano, hacia abajo el de suero fisiológico y hacia la izquierda el de clorhexidina.



Toma de la medida de los halos de inhibición con un vernier para su posterior registro en la ficha de recolección de datos.