



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA

TESIS

**“EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO DE ROSMARINUS
OFFICINALIS (ROMERO) IN VITRO EN COMPARACIÓN CON LA
CLOREXIDINA, SOBRE CULTIVOS DE BACTERIAS MAS FRECUENTES EN
GINGIVITIS”**

BACHILLER

TIBURCIO ROJAS, MARÍA MILAGROS

PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

“CIRUJANO DENTISTA”

Asesor: Cd. Esp. Panana Gavedia, Juan Paulo

HUACHO-PERU

2015

INDICE

CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la Realidad Problemática.....	01
1.2. Formulación del Problema.....	02
1.3. Delimitación de la Investigación.....	03
1.3.1. Delimitación Espacial.....	03
1.3.2. Delimitación Temporal.....	03
1.3.3. Delimitación Conceptual.....	03
1.4. Objetivos de la Investigación.....	03
1.4.1. Objetivo General.....	03
1.4.2. Objetivos Específicos.....	03
1.5. Justificación e importancia de la investigación.....	03
1.5.1. Justificación.....	03
1.5.2. Importancia.....	04
1.6. Limitación de la investigación.....	05
1.7. Hipótesis de la investigación.....	05
1.7.1 hipótesis General.....	05
1.7.2 hipótesis Específicos.....	05

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la Investigación.....	07
2.2. Bases Teóricas.....	12
2.2.1. Gingivitis.....	12
2.2.1.1. Características clínicas.....	13
2.2.1.2. Etiopatogenia de la gingivitis.....	13
2.2.1.3. Clasificación de la gingivitis.....	14
2.2.1.4. Patógenos Asociados.....	15
2.2.2. Rosmarinus officinalis.....	15
2.2.2.1. Historia.....	16
2.2.2.2. Clasificación sistemática.....	16
2.2.2.3. Descripción Geográfica.....	17
2.2.2.4. Composición química.....	18
2.2.2.5. Propiedades del Romero.....	18

2.2.2.6. Mecanismo de Acción.....	20
2.2.2.7. Uso del romero en la medicina	20
2.2.3. Clorexidina.....	21
2.2.3.1. Historia.....	21
2.2.3.2. Características.....	22
2.2.3.3. Farmacocinética.....	22
2.2.3.4. Concentración.....	22
2.2.3.5. Indicaciones.....	23
2.2.3.6. Mecanismo de Acción.....	24
2.3. Identificación de variables.....	24
2.4. Definición de Términos Básicos.....	25
2.5. Operacionalización de Variables.....	27
CAPITULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	
3.1. Diseño de la Investigación.....	28
3.2. Tipo de Investigación.....	28
3.3. Nivel de la Investigación.....	28
3.4. Métodos.....	28
3.5. Recursos y materiales.....	29
3.6. Procedimiento.....	29
3.7. Población y Muestra de la Investigación:.....	37
3.7.1. Población.....	37
3.7.2. Muestra.....	37
3.7.3. Criterios de Inclusión.....	37
3.7.4. Criterios de Exclusión.....	37
3.8. Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos.....	38
3.8.1. Técnicas.....	38
3.8.2. Instrumento.....	38
CAPITULO IV : RESULTADOS.....	39
CAPITULO V: DISCUSIÓN.....	47
CAPITULO VI: CONCLUSIONES.....	49
CAPITULO VII: RECOMENDACIONES.....	52
REFERENCIA BIBLIOGRÀFICAS.....	53

ANEXOS:	56
ANEXO N°1: MATRIZ DE CONSISTENCIA.....	57
ANEXO N°2: SOLICITUD A LA INSTITUCIÓN.....	59
ANEXO N°3: CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	60
ANEXO N°4: SOLICITUD DE PERMISO.....	61
ANEXO N°5: CONSTANCIA DE DETERMINACIÓN BOTÁNICA.....	62
ANEXON°6 : CONSTANCIA DE LA EXTRACCIÓN.....	63
DEL EXTRACTO DE ROSMARINUS OFFICINALIS (ROMERO).	
ANEXO N°7: CERTIFICADO DE LA EJECUCIÓN DEL PROCESO.....	64
MICROBIOLÓGICO.	
ANEXO N°8: PERMISO PARA SACAR MUESTRAS.....	65
MICROBIOLÓGICAS A LAS PACIENTES QUE ACUDEN A LA CLÍNICA DE LA UAP	
ANEXO N°9: PERMISO DE USO DEL LABORATORIO E.....	66
MATERIALES DE LA UAP.	
ANEXO N°10: PERMISO PARA UTILIZAR EL AMBIENTE.....	67
DE CLÍNICA PARA TOMA DE MUESTRAS.	
ANEXO N°11: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	68
DE MEDIDA DE HALO DE INHIBICIÓN.	
ANEXO N°12: FOTOS.....	69

LISTA DE CUADROS Y GRÁFICOS.....	34
CUADRO 1. Composición química del agar schadler.....	34
CUADRO 2. Ficha recolección de datos.....	40
CUADRO 3. Estadística descriptiva.....	41
CUADRO 4. Rango promedio.....	41
GRAFICO 1. Rango promedio de los halos de las concentraciones.....	41
de <i>Rosmarinus officinalis</i> (Romero).	
GRAFICO 2. Diferenciación lineal entre las diferentes.....	42
Concentraciones	
GRAFICO 3. ERO al 25% vs clorhexidina.....	43
GRAFICO 4. ERO al 50% vs clorhexidina.....	45
GRAFICO 5. ERO al 75% vs clorhexidina.....	46
TABLA 1. Comparación del 25% ERO con la clorhexidina.....	43
TABLA 2. Comparación del 50% ERO con la clorhexidina.....	44
TABLA 3. Comparación del 75% ERO con la clorhexidina.....	45

DEDICATORIA

Por los momentos inolvidables, dedico este trabajo de grado a mi madre Alicia por estar en los momentos importantes de mi vida, por ser el ejemplo para salir adelante y por los consejos que han sido de gran ayuda en mi vida y crecimiento. Ahora soy el resultado de lo que me has enseñado en la vida, ya que siempre has sido una persona honesta, entregada a tu trabajo, una gran madre, y más que todo eso una gran persona que siempre ha podido salir adelante ante los obstáculos. Gracias por confiar en mí y ayudarme a culminar esta etapa de mi vida.

AGRADECIMIENTO:

Agradezco a Dios por permitirme desarrollar mis capacidades, por darme la vida y la fuerza para seguir aun cuando los momentos fueron difíciles.

Al Director CD. Javier Ramos De los Ríos por estar siempre presente y velar por el bienestar de la Escuela Profesional de Estomatología.

Al C.D. Esp. Panana Gavedia, Juan Paulo por ser mi asesor en la elaboración de esta tesis.

Agradezco a la UNMSM por abrirme sus puertas y permitir elaborar gran parte de mi tesis en sus ambientes y a los maestros que me brindaron su apoyo incondicional.

A mis maestros de la UAP, gracias por su tiempo, su apoyo, y su sabiduría que me transmitieron en el desarrollo de mi carrera quienes me enseñaron a ser mejor en la vida y a realizarme profesionalmente.

RESUMEN

El ***Rosmarinus Officinalis*** (*Romero*) es una planta perteneciente a la familia *Rosmarinus*, conocida en Perú como *Romero*. A la cual se le atribuye efectos antimicrobianos, antiinflamatorios, antioxidante, antiviral, colerético, colagogo, antiespasmódico, diurético, astringente y antiséptica, estas dos últimas permiten combatir afecciones bucofaríngeas como las aftas bucales, amigdalitis, faringitis y gingivitis.

La presente investigación responde a un diseño cuasi-experimental *in vitro*, de tipo experimental, prospectivo, longitudinal, analítico y de nivel explicativo.

Objetivos: Determinar el Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto de ***Rosmarinus Officinalis*** (*Romero*) en comparación con la Clorexidina sobre cultivos de bacterias frecuentes en la gingivitis. El extracto de dicha planta se obtendrá por el método de macerado y concentrado en el Rotavapor. Para la realización del análisis microbiológico, se utilizara el extracto de ***Rosmarinus Officinalis*** (*Romero*) a un porcentaje de 25%,50%,75%. Tomando como control positivo a la clorhexidina 0,12 % y control negativo agua destilada. Se seleccionaron 20 pacientes con diagnóstico clínico gingivitis, que acudieron a atenderse en la clínica de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la salud escuela profesional de estomatología de la universidad Alas peruanas filial Huacho. Se procedió a tomar la muestra con conos de papel número 30 ó 35 se colocó dentro del saco periodontal durante 15 a 30 segundos, luego se colocaron en un medio de transporte y crecimiento (caldo tioglicolato), las muestras fueron llevadas al laboratorio de microbiología para su procesamiento. Se utilizara el método de difusión en pocillos con las soluciones experimentales y se incubó en condiciones de microaerofílico con un 50% de CO₂, por 48 h a 37 °C, para luego proceder a la lectura de los diámetros del halo de inhibición.

Los resultados nos evidencia diferencias significativas entre ella demostrando efecto el (75%) y no efecto el (25%, 50%) en comparación con la clorhexidina.

Palabras claves: Extracto, *Rosmarinus officinalis*, gingivitis.

SUMMARY

Rosmarinus officinalis (Rosemary) is a plant belonging to the family Rosmarinus, known in Peru as rosemary. A which is credited with antimicrobial, anti-inflammatory, antioxidant, antiviral, cholagogue, antispasmodic, diuretic, astringent and antiseptic, the latter two allow combat oral and throat infections such as cold sores, tonsillitis, pharyngitis and gingivitis.

This research responds to a quasi-experimental in vitro design, experimental, prospective, longitudinal, analytical and explanatory level type. To determine the in vitro antibacterial effect of the extract of ***Rosmarinus officinalis*** (Rosemary) on cultures of bacteria common in patients with gingivitis. Said plant extract is obtained by the method of entrainment by steam. For carrying out the microbiological testing, the extract of ***Rosmarinus Officinalis*** (Rosemary) to a percentage of 25%, 50%, 75% .Tomando as chlorhexidine positive control and negative control 0.12% distilled water is used. We selected 20 patients with clinical diagnosis gingivitis, who came to be addressed at the clinic of the Faculty of Dentistry of the University Peruvian Wings subsidiary Huacho. He proceeded to take the sample number with paper cones 30 and 35 are placed within the periodontal pocket for 15 to 30 seconds, then the samples were brought to the microbiology laboratory for processing. Diffusion method was used in well with the experimental solutions and incubated under anaerobic conditions for 48 h at 37 ° C, then proceed to reading the zone diameters of inhibition.

Keywords: Extract, ***Rosmarinus officinalis***, gingivitis.

INTRODUCCIÓN

La gingivitis inducida por placa es la inflamación de la encía producida por bacterias localizadas en el margen gingival. Clínicamente detectable por edema, eritema, cambios morfológicos, exudado y sangrado. Está presente en gran parte de la población y si no es controlada a tiempo se puede producir la destrucción de los tejidos originando periodontitis y la futura pérdida de las piezas dentales.

La condición de Salud Bucal en el Perú, atraviesa una situación crítica debido a la alta prevalencia de enfermedades odontoestomatológicas, tenemos así que la prevalencia de la enfermedad periodontal es de un 85 %, constituyendo un problema de salud pública. Teniendo en cuenta que nuestra población necesita alternativas de costos reducidos y a la vez un beneficio en el tratamiento de dichas afecciones, lo que haría accesible a diferentes clases sociales.

Las plantas han sido utilizadas durante miles de años en muchas partes del mundo por sus propiedades nutritivas y medicinales; y aunque su empleo con fines terapéuticos estuvo durante muchos años asociado a ritos mágicos y religiosos, habría que resaltar que esta utilización se basa en el conocimiento de la planta. El origen de la utilización de las esencias y aromas es tan antiguo como la agricultura. Comenzó por una recogida indiferente de plantas, pasando a una recolección selectiva de unas sobre otras, hasta llegar a domesticar las más útiles hasta su extensión a cultivo. Se aprovechan en la industria alimentaria, en el hogar, en medicina y en cosméticos.

Recientemente se han vuelto a valorar las terapias naturales teniendo cada vez más auge la medicina alternativa, adquiriendo relevancia la medicina botánica que se basa en el uso de plantas y sus constituyentes. Aunque el efecto de las plantas curativas pareciera lento son mejores a largo plazo.

El *Rosmarinus Officinales* (Romero), es una planta originaria del mediterráneo, Cultivado en muchos países del mundo, planta rica en principios activos y con acción sobre casi todos los órganos del cuerpo humano. Al tener un alto contenido en aceites esenciales, cuyos ingredientes activos son flavonoides, ácidos fenólicos y principios amargos, genera una acción tónica y estimulante

sobre el sistema nervioso, circulatorio y corazón, además de ser colerético, colagogo, antiespasmódico, diurético, astringente y antiséptica, estas dos últimas permiten combatir afecciones bucofaríngeas como las aftas bucales, amigdalitis, faringitis y gingivitis , pero disminuyendo las posibilidades de enfrentar efectos secundarios que se producirían al utilizar fármacos convencionales.

El objetivo de este estudio fue comprobar el efecto de un extracto elaborado a partir de *Rosmarinus Officinales* (Romero), en la disminución antiinflamatoria gingival; fundamentándose el diseño experimental en las propiedades antibacterianas y antiinflamatorias del *Rosmarinus Officinales* (Romero).

CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la Realidad Problemática

El uso de las plantas con fines curativos se remonta al principio de la historia de la humanidad. El hombre recurría a la naturaleza en busca de su alimento y de su salud. Por medio de aciertos y errores aprendió a conocer las plantas que lo curaban; este conocimiento se transmitió de generación en generación y fue incrementándose con la experiencia. Sin los recursos que le ofreció la naturaleza, el hombre no hubiera sobrevivido.¹ Las plantas son importantes fuentes de productos naturales biológicamente activos que constituyen modelos y materia prima para la síntesis de productos farmacéuticos.²

La gingivitis causada por placa bacteriana es la forma más prevalente de todas las enfermedades que afectan al periodonto. La etiología bacteriana fue demostrada ampliamente desde la década de 1960 con el estudio clásico de la gingivitis experimental de Loe et al, y posteriormente duplicada por muchísimos investigadores. Estos estudios han demostrado que la gingivitis se desarrolla cuando la placa se acumula sobre las superficies dentales y siempre desaparece cuando se remueve la placa.³

El interés por las alteraciones gingivales se basa no tanto en su gravedad, sino en su enorme prevalencia entre la población. Los cuadros de inflamación gingival sin alteración del periodonto subyacente se detectan con elevada frecuencia entre la gente. Se establece que es visible en un

rango de 20-50%, variando según la edad de los individuos, su sexo y su raza.⁴

La gingivitis presenta tres etapas: inicial, temprana y establecida. La lesión inicial corresponde a una inflamación aguda que puede ser inducida experimentalmente al aplicarse extractos de placa bacteriana sobre la encía normal. La lesión temprana se caracteriza por infiltrado celular linfoide con predominio de linfocitos T, característicos de las lesiones que se ven en los sitios de reacciones de hipersensibilidad mediada por células y puede inducirse al aplicar antígenos purificados de contacto a los tejidos gingivales de animales sensibilizados previamente. A medida que la condición clínica empeora, las lesiones establecidas pueden permanecer estables por tiempo indefinido o retroceder. En estas lesiones hay predominio de linfocitos B y células plasmáticas.⁵

En nuestro medio, algunas plantas medicinales en el área de salud dental están siendo utilizados en diversas formulaciones farmacéuticas, así tenemos: los enjuagues bucales, colutorios, soluciones tópicas, pastas dentales, etc. Los beneficios que ofrecen a la población son mejores tanto en el aspecto terapéutico como económico.²

1.1. Problema General

¿Cuál es el Efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) en comparación con la Clorhexidina, sobre cultivos de bacterias frecuentes en la gingivitis?

1.2.1. Problemas Específicos

1. ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) al 25% en comparación con la Clorhexidina, sobre cultivos de bacterias frecuentes en la gingivitis?
2. ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) al 50% en comparación con la Clorhexidina, sobre cultivos de bacterias frecuentes en la gingivitis?
3. ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) al 75% en comparación con la Clorhexidina, sobre cultivos de bacterias frecuentes en la gingivitis?

1.3. Delimitación de la Investigación

1.3.1. Delimitación Espacial

La investigación es cuasi-experimental y se llevará a cabo en la universidad Alas Peruanas-Huacho

1.3.2. Delimitación Temporal

La investigación se llevará a cabo entre los meses de octubre – diciembre del 2015.

1.3.3. Delimitación Social

El grupo social a estudiar serán los pacientes que acuden a la clínica estomatológica de la Universidad Alas Peruana –Huacho - 2015.

1.3.4. Delimitación Conceptual

Se considera la siguiente variable Efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) en comparación con la Clorhexidina, sobre cultivos de bacterias frecuentes en la gingivitis.

1.4. Objetivos de la Investigación

1.4.1. Objetivo General

Determinar el Efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) en comparación con la Clorhexidina, sobre cultivos de bacterias frecuentes en la gingivitis.

1.4.2. Objetivos Específicos

1. Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) al 25% en comparación con la Clorhexidina, sobre cultivos de bacterias frecuentes en la gingivitis.
2. Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) al 50% en comparación con la Clorhexidina, sobre cultivos de bacterias frecuentes en la gingivitis.
3. Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) al 75% en comparación con la Clorhexidina, sobre cultivos de bacterias frecuentes en la gingivitis.

1.5. Justificación e importancia de la investigación

1.5.1. Justificación

Las plantas medicinales son consideradas importantes fuentes de productos naturales biológicamente activos que se constituyen en precursores para la síntesis de fármacos. Son también considerados como recursos terapéuticos para el tratamiento o mantenimiento de la salud como medicina casera, principalmente en naciones en vías de desarrollo. Las plantas como *Rosmarinus Officinalis* (Romero) son usadas para combatir enfermedades respiratorias y digestivas, también podría ayudar a prevenir y tratar enfermedades de importancia odontológica y sus propiedades antiinflamatorias y antimicrobianas no poseen ningún daño colateral.

JUSTIFICACIÓN TEÓRICA: La presente investigación se justifica por que aportará al conocimiento científico de la existencia de una planta que no es muy conocida pero que múltiples propiedades medicinales en lo que destaca ser antibacteriana, la cuál sería alternativa de prevención y tratamiento en patologías más frecuentes en la cavidad oral.

JUSTIFICACIÓN PRÁCTICA: Los resultados de este estudio beneficiaran a la población de bajos recursos económicos para que puedan acceder con menor costo a alternativas de prevención y la recuperación de la salud oral.

JUSTIFICACIÓN METODOLÓGICA: En la investigación generaremos nuevos conocimientos sobre los que ya se conoce, para dar paso a futuras investigaciones, entonces posee utilidad metodológica.

1.5.2. Importancia

Se comprobara la efectividad antibacteriana del *Rosmarinus Officinalis* (Romero) en comparación con la Clorhexidina, sobre la gingivitis, de ser así representaría una alternativa más, para la prevención de enfermedades bucales, que tendría un valor económico reducido y por ser natural ocasionaría poca o ningún daño a nuestro organismo.

La presente investigación tiene importancia teórica y social ya que aportara el conocimiento científico sobre la existencia de las plantas

medicinales con propiedad antibacteriana y antiinflamatoria las cuales podría ser alternativa de prevención y tratamiento.

1.6. Limitación de la investigación

- ✓ Escaso material bibliográfico en el Perú de investigaciones relacionadas directamente a evaluar la efectividad antibacteriana de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) sobre la gingivitis.
- ✓ La recolección de las hojas de Romero es dificultoso ya que abundan mayormente en la región sierra del Perú.
- ✓ No contar con los equipos necesarios en el laboratorio de la UAP para ejecución dicho proyecto.
- ✓ Dificultad para conseguir el Agar Schadler.
- ✓ Dificultad para conseguir la Jarra Gasper o de anaerobiosis.
- ✓ Dificultad para conseguir el sobre de anaerobiosis
- ✓ Dificultad para encontrar la micropipeta de 50 uL.
- ✓ Dificultad para encontrar la acetona pura.

1.7 Hipótesis de la investigación

1.7.1 Hipótesis General

- Existe el efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) en comparación con la Clorhexidina, sobre cultivos de bacterias frecuentes en la gingivitis.

1.7.2 Hipótesis Específico

1. Existe efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) al 25% en comparación con la Clorhexidina, sobre cultivos de bacterias frecuentes en la gingivitis.

2. Existe efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) al 50% en comparación con la Clorhexidina, sobre cultivos de bacterias frecuentes en la gingivitis.

3. Existe efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) al 75% en comparación con la Clorhexidina, sobre cultivos de bacterias frecuentes en la gingivitis.

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la Investigación

NACIONALES:

2.1.1. San Román SI (PERU, 2013)⁶, El objetivo de este estudio fue determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *R. officinalis* in vitro sobre cultivos de bacterias anaerobias frecuentes en pacientes con periodontitis crónica, tomando como control positivo a la clorhexidina 0,12 %. Se seleccionaron 24 pacientes con diagnóstico clínico y radiográfico de periodontitis crónica, que acudieron a atenderse en la clínica de la Facultad de Odontología de la UNMSM. Se procedió a tomar la muestra con conos de papel número 30 se colocó dentro del saco periodontal durante 30 segundos, luego se llevaron las muestras al laboratorio de microbiología para su procesamiento. Se utilizó el método de difusión en pocillos con las soluciones experimentales y se incubó en condiciones de anaerobiosis, por 48 h a 37 °C, para luego proceder a la lectura de los diámetros del halo de inhibición. De los resultados se comprobó que existe igual actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *R. officinalis* a una concentración de 75mg/ml con la clorhexidina 0,12 % sobre cultivos de bacterias anaerobias frecuentes en pacientes con periodontitis crónica.

2.1.2. Purca TP (PERU, 2013)⁷, El objetivo de este estudio fue determinar la efectividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (Romero) a concentraciones de: 25mg/ml, 50 mg/ml y 75 mg/ml contra microorganismos frecuentes en la flora salival y compararlos con el control positivo la clorhexidina 0,12 % y control

negativo el agua destilada. Se seleccionaron 22 pacientes que acudieron a atenderse en la clínica de la Facultad de Odontología de la UNMSM. Se procedió a tomar la muestra de saliva no estimulada, luego se llevaron las muestras al laboratorio de microbiología para su procesamiento. Se sembró en el medio Agar Tripticasa soya, se utilizó el método de difusión en pocillos con las soluciones experimentales y se incubó durante 24h y 48h a 37° C, para luego proceder a la lectura de los diámetros del halo de inhibición. Los resultados que se obtuvieron fueron halos de inhibición en promedio de 12,47 mm para 25 mg/ml, 17 mm para 50 mg/ml, 20,56 para 75 mg/ml, 15,56 para la clorhexidina 0,12 %, 5 mm para el agua destilada. Comprobándose que el extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (Romero), presenta una efectividad antibacteriana sobre flora salival.

2.1.3. Bustamante CO, Carranza SL, Mostacero SL, Mostacero SI, Ruiz BM (PERU, 2013)⁸, se determinó el efecto inhibitorio de la infusión del *Rosmarinus Officinalis* sobre *Streptococcus mutans*, con el fin de controlar procesos cariogénicos y formación de placa bacteriana en la cavidad oral. La infusión de *Rosmarinus officinalis* tiene propiedades terapéuticas dependiendo de la concentración utilizada. Para ello, se enfrentó la suspensión bacteriana de 3×10^7 UFC/ml a 3 concentraciones de infusión de romero: 0%, 20% y 40 % durante 1 y 5 minutos respectivamente, realizado in vitro en el laboratorio de Microbiología de la Escuela de Estomatología; se empleó el método de siembra en superficie para contabilizar las UFC/ml sobrevivientes al efecto inhibitorio. La evaluación se basó en la comparación de los recuentos obtenidos en los ensayos problema con el control, efectuándose tres repeticiones para cada ensayo. Los recuentos obtenidos en cada repetición se analizaron estadísticamente mediante el análisis de varianza (ANOVA) y análisis de diferencia significativa (Games-Howerd). Como resultado se obtuvo que para el *S. mutans*, la infusión de *R. officinalis* al 40% presentó mayor eficacia con una media de 20530000,00 y una diferencia significativa de 0.0028 a los dos

tiempos de exposición (1 y 5 minutos); mientras que al 20% se obtuvo una media de 2016666,67 y tanto a 1 minuto como a los 5 minutos mostró una diferencia significativa de 0,0002 respecto al ensayo control. Concluyendo que a mayor concentración y tiempo de exposición de la infusión de *R. officinalis*, mayor es el efecto inhibitorio sobre *S. mutans*.

INTERNACIONALES:

2.1.4. Ramos A(COLOMBIA, 2013)⁹, Este trabajo se realizó amparado bajo el proyecto: Desarrollo de alternativas de conservación en productos Fito terapéuticos 100% naturales, financiado por COLCIENCIAS, con el fin de observar y determinar el efecto antimicrobiano de aceites esenciales e hidrosoles a partir de dos especies vegetales: *Rosmarinus officinalis* y *Taraxacum officinale* contra *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, proporcionadas por el cepario de bacterias de la facultad de Ciencias de Pontificia Universidad Javeriana. *Rosmarinus officinalis* o comúnmente llamado romero, es una planta ampliamente distribuida en las tierras del mediterráneo, Turquía y en el continente Americano. Los aceites esenciales de esta planta han sido investigados, tanto su actividad antimicrobiana como antioxidante, sin embargo existe un subproducto derivado de la obtención del aceite esencial por hidrodestilación, sobre el cual hay gran interés, el hidrosol. El diente de león es una planta que al igual que el romero, tiene amplia distribución, y posee diversos usos a nivel de medicina tradicional, con diversas aplicaciones tanto gastronómicas como medicinales. El objetivo de este trabajo fue la evaluación antimicrobiana de los hidrosoles y aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* y de *Taraxacum officinale* contra 4 bacterias patógenas: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas saeruginosa* y *Bacillus cereus*. El aceite esencial obtenido del romero, se extrajo a partir de hojas de la planta durante 3 horas mediante el uso de un aparato de Clevenger, y el hidrosol como subproducto de la destilación; para diente de león se realizó el mismo procedimiento por hidrodestilación por 3 horas encontrando únicamente

hidrosol. Se realizó la evaluación de densidad como parámetro donde la densidad del aceite esencial de romero fue de 0.881g/mL \pm 0.016, la densidad del hidrosol de romero fue de 0.9955g/mL \pm 0.00098 y la densidad del hidrosol de diente de león fue de 0.9953g/mL \pm 0.00065, y el rendimiento en cuanto a la obtención del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* fue de 0.594 mL/g \pm 0.04. Complementaria a estas evaluaciones, se realizó la técnica de extracción por microgota, mediante la cual se emplearon 150 μ L de hexano y de diclorometano a temperatura ambiente de 20°C y 3000 rpm en 5 mL de hidrosol, y a través de un cromatógrafo de gases acoplado a masas, se determinaron los compuestos presentes en el hidrosol que se encuentran en el solvente. Para la evaluación de la actividad antimicrobiana tanto del aceite esencial como de los hidrosoles, se realizó por difusión de disco en agar, de 3 concentraciones 100ppm, 10ppm y 1 ppm, se realizó la lectura por halos de inhibición. La actividad antimicrobiana no se evidenció con las concentraciones evaluadas.

2.1.5. Teixeira L (BRASIL, 2012)¹⁰, El objetivo de este estudio fue determinar, in vivo, la actividad antimicrobiana del extracto de *Rosmarinus officinalis* Linn, en las bacterias orales presentes en el biofilm y están relacionados con la caries dental y la enfermedad periodontal. Por lo tanto, se realizó un estudio con 11 voluntarios que constaba de tres tratamientos en tres fases de 14 días cada uno, en los que los voluntarios realizaban enjuagues bucales con las siguientes soluciones: control negativo / placebo; solución de 0,12 % de clorhexidina (“patrón oro”) y una solución que contiene extracto crudo de las hojas de *Rosmarinus officinalis* Linn (Solución de ensayo). El índice de higiene oral semanal simplificado se utilizó para determinar la interferencia de las soluciones en los voluntarios biofilm dental. Los datos clínicos y estadísticos indican que el extracto de romero al parecer no mostró grandes resultados, no realizar la acción en las concentraciones indicadas. Como era de esperar, la

clorhexidina logra los mejores resultados en la lucha contra la biopelícula.

Teniendo en cuenta los estudios de pre - existentes, esta investigación sugiere que la acción de jardín extracto de romero puede tener resultados significativos en otras concentraciones, no descartando así la posible actividad antibacteriana de la planta estudiada.

2.1.6. Estrada SP (ECUADOR, 2010)¹¹ La investigación de la actividad antibacteriana “*in vitro*” de los extractos de Romero y Tomillo frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Klebsiella pneumoniae*. ATCC 13883, *Candida albicans* ATCC 10231 y *Pseudomonas aeruginosa*. ATCC 27853 se realizó en los laboratorios de Fotoquímica y Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Para el efecto se obtuvo los extractos por maceración de las hojas y tallos en un balón aforado con hexano y alcohol – agua luego se realizó el control de calidad y se evaporó el solvente a baño María. Posteriormente se usó tres concentraciones diferentes y la mezcla de los extractos blandos frente a las distintas bacterias y se comprobó sus propiedades antimicrobianas utilizando el método de Mitscher el cual consiste en la determinación del crecimiento de los microorganismos en presencia de concentraciones crecientes del antimicrobiano en este caso los extractos, que se encuentran diluidos en el medio de cultivo.

Luego de 24 y 48 horas de incubación; se observó que los extractos de ambas plantas presentan actividad antibacteriana destacándose la mezcla de los extractos hexánicos a concentraciones de 10000 y 1000 µg / mL frente a *Staphylococcus aureus*, *Candidaalbicans* y *Pseudomonas aeruginosa* debido a los compuestos fenólicos como el timol, carvacrol y cineol presentes en el aceite esencial por lo que se recomienda la utilización -73- de la mezcla de los extractos de Romero y Tomillo en infecciones causadas por bacterias y hongos.

2.2. Bases Teóricas

2.2.1 Gingivitis

Definición

Es la enfermedad bacteriana que provoca inflamación y hemorragia gingival, causada por la placa bacteria, detritos alimenticios que quedan atrapados entre los dientes y por una nula o deficiente higiene bucal. De acuerdo a la Academia Americana de Periodoncia (AAP) la Gingivitis es la más leve de las enfermedades del periodonto, según el glosario de términos de la AAP puede ser considerada como el primer estadio de la enfermedad periodontal.

Sin embargo, la nueva clasificación publicada en 1999 por la academia americana de periodoncia introduce el concepto de enfermedad gingival inducida por placa, que unifica todas las lesiones que presenten las **siguientes características:**

- signos y síntomas limitados a la encía.
- Presencia de placa dental para iniciar y/o exacerbar.
- Signos clínicos de inflamación (agrandamiento del contorno gingival debido a edema o fibrosis, cambio de color a rojo o rojo azulado, aumento de la temperatura sulcular, hemorragia tras estimulación, aumento del exudado gingival).
- Niveles de inserción estables (tanto en un periodonto sin pérdida de inserción como en un periodonto reducido).

Definir la gingivitis no ha sido tarea fácil, pero en los últimos años hay una aceptación, cada vez mayor, de que el termino gingivitis no representa una única enfermedad, pero si un amplio espectro de enfermedades que son el resultado final de diferentes procesos.

Es verdad que la inflamación inducida por las bacterias de la placa dental es, sin duda, la forma más común de gingivitis y, tal vez por este motivo, se tiende a denominar con el mismo término cualquier otro tipo de enfermedad que afecte a la encía.

En otros tiempos la presencia de inflamación gingival se consideraba una variante normal de la salud de la encía pero a

mediados el siglo XX este concepto cambio drásticamente cuando se postuló que los sitios de inflamación gingival sin tratar estaban destinados a progresar a una enfermedad periodontal destructiva.³

2.2.1.1 Características clínicas

- Placa presente en el margen gingival.
- La enfermedad comienza en el margen gingival.
- Signos clínicos de inflamación (Agrandamiento del contorno gingival debido a edema o fibrosis, cambio de color a rojo azulado, aumento de la temperatura sulcular, hemorragia tras estimulación, aumento de exudado gingival).
- La profundidad del surco puede aumentar ligeramente debido a la formación de pseudobolsas.
- Reversibilidad de la lesión tras la remoción de la etiología.³

2.2.1.2 Etiopatogenia de la gingivitis

Acerca del papel de las bacterias y del huésped en la gingivitis, se ha llegado a la conclusión de que todo el proceso tiene lugar como consecuencia del intento del huésped de defenderse de la amenaza que suponen las bacterias de la placa.

Cronológicamente, lo primero que ocurre es que una inadecuada técnica de higiene oral permite la acumulación de placa sobre el surco gingival, ante lo cual el huésped va a responder con una capacidad mayor o menor, lo que le generará un cuadro de gingivitis más o menos llamativo.

La mera presencia de bacterias dispara los sistemas de alarma en el huésped y que a partir de este momento se pone en funcionamiento una batería de procedimientos defensivos que van de la respuesta más primitiva, la inflamatoria, a la respuesta más elaborada o específica. Steven Offenbacher y Page y Kornman estudiaron profusamente este tema. El huésped va activando

diferentes sistemas de defensa para intentar eliminar a las bacterias. Estos sistemas de defensa son capaces de actuar independientemente y al mismo tiempo coordinarse e ir activándose unos a otros conforme van fracasando los más simples, para acabar dando lugar a la participación de los sistemas de respuesta más elaborados y más específicos.

La gingivitis se produce en el momento que intervienen los neutrófilos, antes de que progrese la penetración bacteriana y la lesión se cronifique. La actuación de los polimorfos nucleares es posible gracias a la extravasación de células desde los vasos sanguíneos y a la expresión de moléculas de adhesión en las paredes de los vasos y la atracción desde los tejidos por parte de los factores quimio tácticos. Los PMN y otras células inflamatorias migrarán entonces, siguiendo un gradiente quimio táctico, hasta los tejidos, donde pondrán en marcha diferentes mecanismos para intentar frenar a las bacterias y de este modo, podrá resolverse el cuadro. De no ser así, y siguiendo con el esquema de Offenbacher, el huésped reclutará a otras células y probará con otras estrategias, pero en caso de ser también insuficientes, la gingivitis dará lugar a lesiones avanzadas, más propias de la periodontitis.⁴

2.2.1.3 Clasificación de la gingivitis

Según su etiología, podemos clasificar la gingivitis:

a.-Relacionada con placa bacteriana

- simple

-Agravada

Gingivitis relacionada con hormonas sexuales

Gingivitis relacionada con fármacos

Gingivitis relacionada con enfermedades sistémicas

b.- Gingivitis ulcerativa necrotizante aguda (GUNA)

c.- No relacionada con la placa bacteriana

- asociadas a enfermedades cutáneas.
- alérgico ¹¹

2.2.1.4 Patógenos asociados a la gingivitis

Porphyromonas Gingivales

Es un cocobacilo gramnegativo, anaerobio obligado, no móvil. Esta especie presenta una elevada correlación con la progresión de la enfermedad, severidad y pérdida de hueso. Produce un gran número de factores de virulencia: enzimas (hidrolíticas, proteolíticas, lipolíticas y tripsina), otras proteínas del huésped.

Posee un mecanismo de evasión para las defensa del hospedador, lo que favorece la progresión de la enfermedad.

Otro factor es la capacidad de adherirse a una diversidad de tejidos y células del hospedador, la habilidad de invasión y multiplicación.

Las proteinasas de *Porphyromonas gingivalis* degradan los tipos I y IV de colágeno, principales componentes del tejido conectivo y proteínas de la matriz intercelular.

Las fimbrias se comportan como adhesinas y posibilitan a *P. gingivalis* la adherencia y la coagregación, especialmente observada entre *P. gingivalis* y *Fusobacterium Nucleatum*, microorganismo considerado puente de la microbiota subgingival.⁶

Tanarella Forsythensis

Es un bacilo gramnegativo anaerobio fusiforme esta es una especie difícil de cultivar porque el desarrollo de su colonias diminutas llevaba entre 7 y 14 días, presenta una capa serrada en forma de S y se comprobó que es mediadora de aglutinación, adhesión e invasión de células epiteliales y formación de abscesos subcutáneos en ratas.

Considerada una especie gingival relativamente rara. Los estudios inmunológicos con anticuerpos monoclonales y sondas de ADN sugirieron que esta especie se encuentra en niveles muy elevados en la biopelícula subgingival de pacientes con periodontitis crónica. Este microorganismo también se coagregación a *P. gingivalis* y *fusobacteriumnucleatum*.⁶

Prevotella Spp.

Bacilo de extremos cortos redondeados anaerobio gran negativo, es un bacteroides con pigmento negro es particularmente elevada en la gingivitis ulcerosa necrosante aguda y en algunos tipos de periodontitis y en sitios de progresión de la periodontitis crónica. *P. intermedia* posee ciertas propiedades de virulencia observadas en *P. gingivalis* y se comprobó que induce a infecciones mixtas cuando se la inyecta en animales de laboratorio, también se observó que invade las células epiteliales *in vitro*.⁶

Fusobacterium Nucleatum

Es un bacilo gramnegativo fusiforme anaerobio. Aislada con frecuencia en las muestras de cultivo de placa subgingival y representaba aproximadamente el 7- 10 % de los aislamientos. Invade las células epiteliales gingivales.⁶

2.2.2 ROSMARINUS OFFICINALIS(Romero)

2.2.2.1 Historia

El romero (*R. officinalis*) es una planta mediterránea cuyo término se deriva del griego “rhops y myrinos” que significa “arbusto marino” por su crecimiento cercano a las costas. El epíteto "*officinalis*" se aplica a muchas especies que se usan en las oficinas o farmacias y también a aquellas plantas que son consideradas medicinales.⁹

El romero es conocido desde el antiguo Egipto, se dice que los faraones Egipcios hacían poner sobre sus tumbas un ramillete de

romero para perfumar su viaje al país de los muertos. Su aceite esencial fue obtenido por primera vez hacia el año 1330 por Ramón Llull y desde entonces, se emplea en perfumería. En el siglo XVI la reina Isabel de Hungría lo utilizó para tratar el reumatismo que padecía convirtiéndose en «el agua de la reina de Hungría», en uno de los remedios más famosos de la corte de Luis XIV. Los boticarios empleaban el romero en gran número de preparados pero en la actualidad sólo el aceite esencial está incluido en las farmacopeas.⁶

2.2.2.2 Clasificación sistemática

Nombre científico: *Rosmarinos Officinalis*

Taxonomía

Reino: *PLANTAE*

División: *MAGNOLIOPHYTA*

Clase: *MAGNOLIOPSIDA*

Orden: *LAMIALES*

Familia: *LAMIACEAE*

Género: *Rosmarinus*

Especie: *Rosmarinus officinalis*

Nombre vulgar: “Romero”⁶

2.2.2.3 Descripción Geográfica

El Romero, es una planta que crece en todas partes del mundo se distribuye desde la región mediterránea, sur de Europa, norte de África. Incluso se encuentra también en Asia Menor y Sudamérica. En España se halla en la mayor parte de Cataluña, hasta los Pirineos en Aragón y Navarra, Castilla-La Mancha, Castilla y León, La Rioja, Madrid, Murcia, Extremadura, en las zonas montañosas de la Comunidad Valenciana, Andalucía e islas Baleares, en Centro América y el Caribe, a nivel de América del sur crece en varios países, en el Perú crece en la costa, sierra y selva.⁷

2.2.2.4 Composición química

En la planta se han reportado diversos compuestos químicos los cuales han sido agrupados de manera general por diversos autores en:

- Ácidos fenólicos
- Flavonoides
- Diterpenos
- Ácidos triterpénicos
- Alcoholes triterpénicos(alfa y beta - amirina, betulósido)
- Alcaloides
- Carnosol
- Rosmanol
- Pequeñas cantidades de Rosmaricina
- Elementos minerales: 1,11% de sodio, 1.06% de potasio, 0.63% de calcio, 0.23 % de magnesio. 17ppm de hierro, 10 ppm de cobre, 26 ppm de zinc, 15 ppm de manganeso.⁶

2.2.2.5 Propiedades del Romero

Los compuestos presentes en *R. officinalis* L. planta rica en principios activos, presenta acción sobre casi todos los órganos de cuerpo humano. Al tener un alto contenido en aceites esenciales, cuyos ingredientes activos son flavonoides, ácidos fenólicos y principios amargos, genera una acción tónica y estimulante sobre el sistema nervioso, circulatorio y corazón, además de ser colerético, colagogo, antiespasmódico, diurético, emenagogo y antigodanotrópico.⁶

Actividad antibacteriana

El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) presentó actividad en bacterias de la cavidad oral y en bacterias del tracto gastrointestinal. Los Extractos hidroalcohólicos también muestran actividad en bacterias de la cavidad oral.

El extracto de hoja de *R. officinalis* afecta a la membrana celular de las bacterias, la actividad citotóxica afecta directamente a la fase mitótica de las bacterias Gram positivas y Gram negativas. Por destacar, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. Y *S. aureus*, estos microorganismos son susceptibles a los componentes del extracto de romero, en cuyo extracto prevalecen el ácido caféico, ácido rosmarínico, carnosol, ácido carnosólico y flavonoides.⁶

Efectos antioxidantes.

Se ha observado en estudios *in vitro*, la actividad antioxidante ha sido atribuida al rosmanol, carnosol y al ácido carnosílico; a estos dos últimos se les considera responsables del 90 % de la actividad. El ácido carnosílico es un excelente inactivador de radicales peróxilo, es decir es un antioxidante primario, y no solo inhibe la formación de hidroperóxidos sino también previene su descomposición, esta actividad se incrementa conforme el pH disminuye.⁶

Actividad antiviral

Estudios *in vitro* en células demuestran que el extracto acuoso de *R. Officinalis* mostró una alta actividad antiviral contra el herpes simple tipo 1, tipo 2 y una cepa resistente al aciclovir, el extracto afecta HSV antes de la adsorción, pero no tienen efecto en la replicación del virus intracelular. Por lo tanto, los extractos ejercen su efecto antiviral sobre el HSV libre y ofrece la posibilidad de usar una aplicación tópica terapéutica frente a las infecciones por herpes recurrentes.⁶

Efectos antiinflamatorios.

El ácido rosmarínico inhibe el mecanismo complemento-dependiente de las reacciones inflamatorias; reduce el edema inducido en rata e inhibe la anafilaxis cutánea pasiva; el extracto etanólico de “romero”, aplicado tópicamente en ratones, inhibe la inflamación de la piel y la hiperplasia producida por compuestos químicos.⁶

Efectividad antitumoral.

En estudios realizados *in vivo* como *in vitro* el ácido carnósico contenido en el aceite esencial ha demostrado un efecto incrementando la apoptosis de las células del cáncer hepático, la inhibición del glioma inducido por el factor de necrosis tumoral y la protección frente al tumor cutáneo y mamario inducido en ratones.⁶

2.2.2.6 Mecanismo de acción

Los polifenoles desempeñan un papel importante en la protección contra agentes patógenos, donde pueden retrasar el crecimiento debido a que cambian las condiciones del medio y penetran en la membrana celular de los microorganismos provocando lisis.

Se ha reportado que algunos ácidos orgánicos (ácido ascórbico, ácido rosmérico, ácido caféico) son compuestos que inhiben el crecimiento de algunas bacterias. Algunos flavonoides tienen su participación en la inhibición debido a que estos generalmente se relacionan con la inhibición de síntesis de ADN y ARN y otras macromoléculas.⁶

2.2.2.6 Uso del romero en la medicina.

El ácido rosmarínico se absorbe bien en el tracto gastrointestinal y de la piel. Se aumenta la producción de prostaglandina E2 y reduce la producción de leucotrieno B4 en los leucocitos polimorfo nucleares humanos, e inhibe el sistema del complemento. Se concluye que el “romero” y de sus componentes derivados del ácido caféico especialmente tales como el ácido rosmarínico tienen un potencial terapéutico.⁶

La infusión de hojas de romero alivia la tos y es buena para el hígado y para atajar los espasmos intestinales. Debe tomarse antes o después de las comidas. El humo de romero sirve como tratamiento para el asma. El alcanfor de romero tiene efecto hipertensor (sube la tensión) y tonifica la circulación sanguínea, por sus propiedades

antisépticas, se puede aplicar por decocción sobre llagas y heridas como cicatrizante.⁷

También posee una ligera cualidad emenagoga (regular la menstruación). Cura heridas y llagas. De sus hojas se obtiene el "agua de la reina de Hungría", para perfumería y también un agua destilada que se utiliza como colirio, la esencia puede usarse para combatir dolores reumáticos. En la cocina se utiliza para asados, guisos, sopas y salsas y además se puede preparar "vino de romero" con propiedades benéficas para la función estomacal así como en la fabricación de jabones, desodorantes, cosméticos, perfumes, etc.⁷

2.2.3 CLORHEXIDINA

2.2.3.1. Historia

La Clorhexidina se desarrolla en la década de los 40 por Imperial Chemical Industries en Inglaterra por científicos en un estudio contra la malaria, aunque nunca fue utilizada con este fin. En ese momento los investigadores fueron capaces de desarrollar un grupo de compuestos 20 denominados polibiguanidas que demostraron tener un amplio espectro antibacteriano y salió al mercado en 1954 como antiséptico para las heridas de la piel. Posteriormente comenzó a utilizarse en medicina y cirugía tanto para el paciente como para el cirujano. En odontología empezó a utilizarse para desinfección de la boca y en endodoncia. El estudio definitivo que introdujo la clorhexidina en el mundo de la periodoncia, fue el realizado por Løe y Schiott en 1970 donde se demostró que un enjuague de 60 segundos dos veces al día con una solución de gluconato de clorhexidina al 0.2 % en ausencia de cepillado normal, inhibía la formación de placa y el desarrollo de gingivitis. Según Altannir y colaboradores en 1994 la clorhexidina es de uso corriente en más de noventa países y que más diez mil millones de aplicaciones de digluconato de clorhexidina han sido llevadas a cabo en los dos últimos años.¹⁴

2.2.3.2. Características

La clorhexidina es una molécula bica tiónica simétrica, es un dímero proguanil por lo que decimos que es una bisguanida, la cual está conectada por una cadena central hexametileno. En cada extremo se enlaza un radical paraclorofenil (2 anillos 4 clorofenil), resultando su nombre completo: paraclorofenilbiguanida. Este compuesto es una base fuerte dicatiónica a PH superior a 3.5 con dos cargas positivas en cada extremo del puente hexametileno. Es esta naturaleza dicatiónica la que lo hace extremadamente interactiva con los aniones, lo que es relevante para su eficacia, seguridad, efectos secundarios colaterales y su dificultad para formularla en productos. Aunque es una base, la clorhexidina se mantiene más estable en su forma de sal y la preparación más común es la sal de digluconato por su alta solubilidad en agua.¹⁴

2.2.3.3. Farmacocinética

Los estudios farmacocinéticas de clorhexidina, indican que aproximadamente el 30% del principio activo, se retiene en la cavidad oral después del enjuague. La clorhexidina retenida se libera lentamente en los fluidos orales. Estudios realizados en animales y en humanos, demuestran la escasa absorción del fármaco en el tracto gastrointestinal. Los niveles plasmáticos de clorhexidina alcanzan un pico máximo de 0.206microgramos por gramo en humanos, 30 minutos después de la ingestión de 300 mg de clorhexidina. No se encontraron niveles detectables en plasma de clorhexidina después de 12 horas de la ingesta.¹⁴

2.2.3.4. Concentración

La clorhexidina suele presentarse en dos concentraciones, al **0.12 %** y al **0.2 %**, se recomienda realizar un buche con 10 ml de producto a una concentración del 0.2 % y de 15 ml al 0.12 %, esto es debido a la dosis total de clorhexidina ya que 10ml al 0.2 % libera 20 mg y 15 ml al 0.12

% libera 18 mg, observándose que los resultados con ambas formulaciones son igual de efectivos.

Las últimas investigaciones van encaminadas a conseguir una formulación de Clorhexidina en medio no alcohólico igual de efectiva que la formulación de la misma en solución alcohólica. Según el estudio de se consigue con una combinación de clorhexidina al 0.12 % sin alcohol a la que se añade cetilpiridinio al 0.005 % (nueva formulación de Perio Aid), resultando igual de efectiva en el control de la formación de nueva placa que clorhexidina con alcohol al 0.12 % (Perio Aid) y que clorhexidina con alcohol al 0.2 % (Corsodyl).¹⁵

2.2.3.5. Indicaciones clínicas

- **Gingivitis.** - No sólo asociada a placa, también es efectiva en el tratamiento de gingivitis necrosante aguda y crónica.

- **Periodontitis.** - Aunque la clorhexidina es ineficaz para controlar placa subgingival en bolsas de 3 o más mm) sí parece un elemento útil combinado con el tratamiento periodontal, ya que tras el raspado y alisado radicular, la resolución del tejido inflamado depende del control efectivo y diario de la placa. Así la utilización de colutorios de clorhexidina está justificada como han demostrado los estudios de L6e y Schittt, (1970) y Bosman y Powell, (1977).

- **Cirugía periodontal.**- Todos los estudios están de acuerdo en que la clorhexidina es un buen complemento terapéutico en el control de la inflamación gingival y en especial en situaciones agudas. Después de la cirugía periodontal y otro tipo de cirugía oral, la capacidad del paciente para controlar la placa está disminuida, por lo que la utilización de la clorhexidina es un buen complemento.

- **Alveolitis.**- El control de placa es útil para reducir la alveolitis después de la extracción de terceros molares. Diversos estudios han concluido una disminución en la incidencia de alveolitis post-extracción con el uso de colutorios de clorhexidina.

- **Estomatitis por dentaduras (candidiasis subplaca).**-En casos de estomatitis por dentaduras, la infección inicial está causada por contaminación de las prótesis por los hongos. La clorhexidina al 0,2% es recomendada como desinfectante.
- **Ulceraciones aftosas. Adyy (1977)** concluye que los buches de clorhexidina al 0,2% reducen significativamente la incidencia, severidad y duración de las ulceraciones aftosas, mientras que en forma de gel se reduce sólo la gravedad y duración pero no la incidencia. Esto es corroborado por Hunter (1987).¹⁵

2.2.3.6. Mecanismo de Acción

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

En boca se adsorbe rápidamente a las superficies de contacto, incluidos los dientes con película adquirida, proteínas salivales y a la hidroxiapatita. Los depósitos de clorhexidina se forman por la interacción reversible de la molécula de clorhexidina con grupos fosfato, sulfato y carboxilo de los tejidos blandos y duros.

La clorhexidina adsorbida se libera gradualmente en 8 -12 horas en su forma activa. Después de 24 horas aún pueden recuperarse concentraciones bajas de clorhexidina, lo que evita la colonización bacteriana durante ese tiempo.¹⁵

2.3. Identificación de variables

Variable independiente	:	Extracto de Rosmarinus oficinales (Romero)
Variable dependiente	:	Actividad antibacteriana

Variable de control	:	
Control positivo	:	Clorhexidina 0.12%
Control negativo	:	Agua destilada

2.4. Definición de términos Básicos

- 2.4.1 **Ácido Rosmarínico.**-Es un ácido caféico, éster encontrado en una variedad de plantas. Tiene propiedades antioxidantes y/o propiedades medicinales. El ácido rosmarínico es el responsable de la actividad antiinflamatoria del romero, ya que se ha demostrado que dicho ácido fenólico actúa en la formación de las prostaglandinas, de la misma forma que lo hacen los antiinflamatorios convencionales.
- 2.4.2 **Carnosol.**-Es un diterpeno fenólico encontrado en el romero (*Rosmarinus officinalis*).
- 2.4.3 **Concentración.**- Acción de concentrar o concentrarse cosas o personas que están dispersas o que se pueden dispersar.
- 2.4.4 **Extracto.**- Sustancia muy concentrada que se obtiene de una planta, semilla u otra cosa por diversos procedimientos.
- 2.4.5 **Gingivitis.**-La gingivitis es una forma de enfermedad periodontal, que es la inflamación e infección que destruyen los tejidos de soporte de los dientes. Esto puede incluir las encías, los ligamentos periodontales y los alvéolos dentales (hueso alveolar).
- 2.4.6 **Halo de inhibición.**-Medición de la actividad de un antibiótico a partir del tamaño del *halo de inhibición*. Ejemplo, en una cápsula de Petri con un medio de cultivo.
- 2.4.7 **Patógenos.**- Se denomina patógeno a todo agente biológico externo que se aloja en un ente biológico determinado, dañando de alguna manera su anatomía, a partir de enfermedades o

daños visibles o no. A este ente biológico que aloja a un agente patógeno se lo denomina huésped, hospedador o también hospedante, en cuanto es quien recibe al ente patógeno y lo alberga en su cuerpo.

2.4.8 **Papel Whatman.-** son estándares de referencia mundial por su calidad y ofrece una amplia gama de filtros de papel.

2.4.9 **Polifenoles.-** Son un grupo de sustancias químicas encontradas en plantas caracterizadas por la presencia de más de un grupo fenol por molécula. Los polifenoles son generalmente subdivididos en taninos hidrolizables, que son ésteres de ácido gálico de glucosa y otros azúcares; y fenilpropanoides.

2.4.10 **Rosmarius officinalis.-** Es una planta mediterránea cuyo término se deriva del griego “rhops y myrinos” que significa “arbusto marino” por su crecimiento cercano a las costas. El epíteto “*officinalis*” se aplica a muchas especies que se usan en las oficinas o farmacias y también a aquellas plantas que son consideradas medicinales.

2.5. Operacionalización de Variables.

VARIABLE	DIMENSIÓN	NIVEL DE MEDICIÓN	ESCALA DE MEDICIÓN	INDICADOR	CATEGORIA DE ESCALA	INSTRUMENTO
<p>Variable independiente Concentración de Extracto de <i>Rosmarinus officinalis</i> (Romero).</p>	<p>Porcentaje del extracto de <i>Rosmarinus officinalis</i> (Romero)</p>	cuantitativa	Discreta	<p>Porcentaje del extracto de <i>Rosmarinus officinalis</i> (Romero)</p>	<p>25 % 50 % 75 %</p>	<p>Ficha de recolección de datos.</p>
<p>Variable dependiente Actividad antibacteriana.</p>	<p>Halo de inhibición en los cultivos en las bacterias de la gingivitis.</p>	cuantitativa	continua	<p>Medición del halo de inhibición en milímetros formado alrededor del pocillo inoculado con el extracto de <i>Rosmarinus officinalis</i> (Romero)</p>	<p>“mm” Sensible Intermedio resistente</p>	<p>Calibrador Vernier (pie de rey). Lupa.</p>

CAPITULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Diseño de la Investigación

La investigación corresponde a un diseño cuasi-experimental *in vitro*.

3.2. Tipo de Investigación

La investigación es de tipo

- ✓ **Experimental;** Porque se va a valorar el efecto de una o más variables, donde el investigador manipula las condiciones de la investigación.
- ✓ **Prospectivo;** Porque los datos se analizan transcurrido un determinado tiempo en el futuro.
- ✓ **Longitudinal;** Porque es un estudio cuya base es la experiencia a lo largo del tiempo.

3.3. Nivel de la Investigación

- ✓ **Explicativo;** Porque explicamos el comportamiento de una variable en función a la otra, por ser estudio causa y efecto requieren control.

3.4. Métodos

Los métodos, aplicados en el presente trabajo de investigación son los siguientes:

- ✓ **Explicativo:** por ser estudios de causa y efecto, requieren de control.
- ✓ **Síntesis:** De tal manera que se formularon las conclusiones a las que se arribó el producto de la investigación.
- ✓ **Estadístico:** Para procesar, analizar y presentar los datos recogidos de la muestra en estudio.

3.5 Recursos y Materiales:

3.5.1 Recursos ambientales

- Laboratorio de microbiología de la universidad Alas peruanas-Huacho.
- Laboratorio de Química para elaboración del extracto.
- Ambientes de clínica de la UAP filial Huacho para la toma de muestras.

3.5.2 Materiales:

- Extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (EERO)
- Clorhexidina 0.12 %.
- Agua destilada.
- suero fisiológico
- Agar Schadler.
- Caldo de tioglicolato.

3.5.3 Equipos:

- Instrumentos para la obtención del extracto etanólico del romero.
- Balanza de precisión.
- Materiales de diagnóstico odontológico.
- Envases estériles para la recolección de la muestra.
- Instrumentos para la siembra microbiológica.
- Gradilla.
- Hisopos estériles
- Micropipetas.
- Conos de papel.
- Placas Petri.
- Mechero de vidrio.
- Estufa de incubación.
- Tubos de ensayo.
- Varillas de vidrio.
- Caja aislante de temperatura para el transporte de las muestras.
- Envase de boca ancha con tapa
- Vela
- cinta de embalaje.
- papel kcraft

- Mascarilla, gorro, guantes
- Curetas
- gasas

3.5.4 Recursos humanos

- Asesores
- Químico farmacéutico
- Microbióloga
- Operador de estadística
- Bachiller

3.5.5 Otros:

- Fichas de recolección de datos
- Lapiceros y lápices.
- Computadora.
- Programa estadístico SPSS V.22.
- Impresiones.
- Anillados y empastados.

3.6. Procedimiento

3.6.1 Obtención del Extracto de *Rosmarinus officinalis* (Romero)

Se recolectaron tallos, hojas y flores de *R. officinalis*, proveniente del valle de Tarma provincia de Tarma departamento de Junín (3.050 msnm.)

Por principio se tomó una muestra entera de la planta de ***Rosmarinus officinalis***, (Romero) que fue llevada al Museo de Historia Natural de la Universidad Mayor De San Marcos, para su determinación botánica respectiva. **(ANEXO N°4).**

Una vez reconocida y determinada botánicamente como la planta de *Rosmarinus officinalis*(Romero). La materia prima fue conservada a temperatura ambiente.Se usó las hojas frescas de *Rosmarinus officinalis* (Romero) previamente seleccionadas, estas fueron lavadas con agua y secado por 72 horas para que esté libre de humedad.

Se procedió a deshojar el romero la cantidad de 400gr para luego triturar las hojas en un mortero y posteriormente ser colocado en un frasco de vidrio de color ámbar de boca ancha de 1lt, los 3 % en gramos: 25% igual a 50g; 50% igual a 100gr; 75% igual a 150 gr luego se le agregó una mezcla hidroalcohólica al 80 % (etanol), 25gr en 200ml; 50gr en 400ml, 75gr en 600ml dejándolo macerar por 1 semana, agitándolo todos los días. El producto fue filtrado 3 veces, primero con papel filtro Whatmann N° 41, un segundo filtrado fue realizado con papel filtro Whatmann N° 2 y por último un tercer filtrado fue en papel Whatmann N° 1. Luego se colocó al Rota vapor para realizar la concentración y obtener un extracto libre de etanol Obteniéndose 75ml, 50ml y 25ml de extracto purificado libre de gérmenes. Luego fue colocado en una estufa para ser secado y obtener un extracto más purificado.

Todo este proceso lo lleve a cabo en la facultad de Química, Química Orgánica e Inorgánica y Química Industrial de la UNMSM en el laboratorio de Productos Naturales bajo el asesoramiento de la Mg Gloria Eva Tomas Chota. **(ANEXO N°5)**

3.6.2 Lavado, Empacado y Esterilización del Material

Fue necesario que todos los materiales estén en condiciones de esterilidad, limpiando primero toda el área de trabajo con una solución desinfectante.

El material a esterilizar se empaco correctamente con papel kraft, siendo por sus características ideal para evitar el ingreso de microorganismos al interior y evita así la contaminación permeabilizando el material.

3.6.2.1. Lavado

- Enjabonamos el instrumental, mediante el detergente elegido para ablandar y disolver la suciedad.

- Se hizo fricción con un cepillo de cerdas no metálicas (las cerdas metálicas pueden dañar el acero) tiene por finalidad desprender la suciedad.
- Aclaremos con agua desmineralizada (las aguas muy duras pueden producir manchas en el instrumental y posteriormente una picadura por corrosión del mismo) el aclarado se realizara de forma minuciosa y con abundante agua, para arrastrar los restos orgánicos y del detergente.
- No existe una buena limpieza sin un aclarado perfecto ya que cualquier resto de detergente actuara como barrera, impidiendo la acción del agente esterilizante.
- El secado se realizó inmediatamente después del aclarado, para evitar la formación de manchas en la superficie del instrumental. Un secado defectuoso con gotas de agua puede llevarnos a una esterilización incorrecta, ya que las gotas de agua pueden actuar como barrera protectora sobre las bacterias.
- Una vez limpio el instrumental se procederá a la desinfección, del mismo para evitar el contagio de diferentes tipos de virus.

3.6.2.2. Empacado

Placas Petri

- Cortamos el papel kraft, en forma de rectángulos adecuados para la cantidad de 2 a 3 cajas. Colócalas en la parte central y envolverlas. Se tomaron los extremos de Papel y se unirán.
- Se hizo un nuevo doblez recargando ligeramente en la caja para marcarlo.
- Los extremos se doblaron en forma triangular.
- Ya en forma triangular se doblan hacia atrás quedando listas.

Pipetas

- Introducimos una pequeña porción de algodón en el cuello de la pipeta.
- Procurando que quede lo suficientemente apretada.

- Con tiras de papel de 3 cm de ancho se envolvió.
- Comenzamos por la punta y en forma de espiral, giramos hacia arriba hasta el final de la pipeta.

Tubo de ensayo

- Antes de utilizar los tubos de ensayo se lavan y enjuagan con agua de caño y luego con agua destilada,
- Para la recolección de la muestra problema se añade 10ml de caldo tioglicolato y se tapan con un tapón de algodón y se lleva a esterilizar a una temperatura de 121°C, en 15 libras de presión por 15 minutos.
- Para los tubos con tapa rosca que se emplean para comprobar la turbidez del tubo 0.5 de la escala de McFarland se añadieron 5 ml de solución salina fisiológica.

3.6.2.3. Esterilización

- Colocamos el material dentro de la esterilizadora.
- Se encendió y se colocó los instrumentos a la temperatura y posición correcta (121°C) a 15-20 PSI.
- Una vez alcanzado la temperatura correcta prolongo 20 minutos de exposición.
- Cuando acabo el tiempo de exposición del equipo dejamos un tiempo de enfriamiento.
- Retiramos los empaques y colocamos en lugares adecuados hasta ser usado.

3.7.3 Preparación del medio de cultivo Agar Schadler.

- La preparación del Agar Schacler se llevó acabo en la UNMSM ya que dicho Agar es escaso en los mercados del país.
- La preparación estuvo a cargo del microbiólogo Alejandro Patiño profesor de la UNMSM para lo cual se necesitó diversos compuestos químicos:

COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL AGAR ESCHADLER¹⁶ (CUADRO N°1)

Digerido pancreático de caseína	8,2 g
Digerido péptico de tejido animal	2,5
Digerido papaico de harina de soja	1,0
Glucosa	5,8
Extracto de levadura	5,0
Cloruro sódico	1,7
Fosfato dipotásico	0,8
L-cistina	0,4
Hemina	0,01
Vitamina K	0,01
Tri-hidroximetil-aminometano	3,0
Agar	13,5
Sangre de carnero, desfibrinada	5%

- La cantidad de medio de cultivo que se coloca en cada placa es aproximadamente 20ml cantidad necesaria para que los microorganismos puedan tener nutrientes necesarios para su crecimiento.
- Las placas, fueron almacenadas en un lugar oscuro a una temperatura entre 2 y 8 °C (parte más baja de la refrigeradora) envueltas en bolsas de polietileno para que no pierdan su humedad, hasta antes de usarlas. Evitar la congelación y el calentamiento excesivo. La fecha de duración del Agar Schadler es de 2 semanas, y el tiempo de incubación con el microorganismo inoculado es según recomendado según la literatura especializada.

3.7.4 Obtención de la muestra

- Se seleccionó los pacientes que acudieron a la Facultad de estomatología de la Universidad Alas Peruanas –Huacho 2015. Se eligió 12 pacientes adultos, todos ellos presentaron gingivitis diagnosticado en dicho centro a partir de una ficha de recolección de datos y que aún no habían iniciado tratamiento para dicha enfermedad. A cada paciente se le solicitó su consentimiento informado para ser partícipe de este estudio.

Toma de la muestra

- Se revisó la ficha de recolección de datos, se realizó el examen clínico y se seleccionó la pieza que presentaba gingivitis y si presentaba una gingivitis generalizada se escogió la pieza más dañada para la toma de muestra.
- Se colocó una punta de cono de papel N° 30 ò 35 dentro del saco periodontal durante 15 a 30 seg, procurando no alterar la forma del cono de papel. Se retiró la punta y se recolecto en un medio de transporte de caldo de Tioglicolato para mantener la viabilidad del microorganismo.
- El caldo tioglicolato fue preparado en la UNMSM, es un medio de transporte y crecimiento de las bacterias. Se utilizó el caldo tioglicolato debido a que las bacterias pueden sobrevivir durante 24 horas ya que es medio tiene nutrientes necesarios para el crecimiento de estas y si no se usara este caldo la viabilidad de las bacterias solamente seria 15 minutos.
- **Incubación de la muestra:** Una vez obtenida la muestra, esta fue transportada al laboratorio en tubos de caldo de Tioglicolato para su incubación a 37 °C por 24 horas.

3.7.5 Prueba de actividad antimicrobiana

- La prueba de susceptibilidad antimicrobiana se realizó por el método de difusión en pocillos.
- Se utilizó como medio de cultivo el agar Schaedler, para bacterias anaerobias.
- Se enumeró cada placa con números arábigos del 1 al 12 en relación al número de muestras tomadas. Se marcó en el borde de la placa con números debidamente rotulados que indican la posición de los pocillos y el porcentaje de solución para cada uno.
- Se procedió a la dilución de la muestra utilizando suero fisiológico estéril, cuya turbidez de la suspensión se ajustó al estándar 0.5 de la escala de McFarland ($1-2 \times 10^8$ UFC/ml).

- El inóculo utilizado para la siembra se obtuvo con un hisopo estéril embebido en la suspensión del tubo preparado a la escala de McFarland y se sembró sobre la superficie del agar, hasta obtener una distribución uniforme del inóculo.
- Se procedió a realizar los pocillos en la superficie del agar Schaedler con un sacabocado 5 en una placa de 5mm de ancho con una distancia de 14mm de la periferia de la placa a los pocillos y entre pocillo y pocillo una distancia de 24mm.
- Luego se inocularon en cada pocillo una cantidad de 50 μ L de cada porcentaje de solución empleada (25%, 50%, 75% de ERO, clorhexidina de 0.12%(control positivo) y agua destilada (control negativo) esto se realizó con la ayuda de una micropipeta.
- Se dejó reposar las placas por 30 minutos y posteriormente se colocó en un recipiente metálico en forma circular con tapa hermética, las placas se colocaron en forma invertida, y antes de cerrar el recipiente se colocó una vela encendida y se colocó cinta adhesiva al rededor de la tapa y el recipiente generando un ambiente microaerofílico con un 5% de CO₂. Cuando la vela consume todo el O₂ del frasco, se apaga consiguiendo una atmósfera de **5-7% O₂ (microaerofílico)**, en este ambiente lo llevamos a incubar durante 48h a 37°C.

3.7.6 Medición de los Halos

- Se midió el diámetro de los halos de inhibición con el calibrador vernier debidamente milimetrado en la base de la placa, el crecimiento de los halos alrededor de los pocillos fueron medianos y grandes, se registraron una ficha de recolección de datos. **ANEXO(11)**

3.7.8 Procesamiento de datos

- Para interpretar los resultados del estudio de acuerdo a los objetivos e hipótesis, se midió y compararon los diámetros del halo de inhibición entre los grupos que presentaban EERO y clorhexidina 0.12 %.
- El análisis se realizó con Software SPSS V22.
- Entre el grupo de estudio EERO, el grupo control positivo (clorhexidina 0.12%) y de control negativo (agua destilada), a fin de evaluar las diferencias significativas que puedan existir en relación al promedio del diámetro de inhibición.

3.6. Población y Muestra de la Investigación

3.6.1. Población

Constituido por 20 pacientes que acudieron a la clínica de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud de la Escuela Profesional de Estomatología de la Universidad Alas Peruanas – filial Huacho en el año 2015.

3.6.2. Muestra

Constituido por 12 pacientes que acudieron a la clínica de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud de la Escuela Profesional de Estomatología de la Universidad Alas Peruanas – filial Huacho en el año 2015.

3.6.2.1 Elección de muestras

Los pacientes se eligieron en forma intencional y no probabilística, conformado por 12 pacientes con gingivitis acudieron a la clínica de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud de la Escuela Profesional de Estomatología de la Universidad Alas Peruanas – filial Huacho en el año 2015.

3.6.3. Criterios de Inclusión

- Pacientes ambulatorios de ambos sexo.
- Pacientes con presencia de gingivitis identificada por diagnóstico clínico.
- Pacientes adulto
- Pacientes que firmaron su consentimiento informado para la obtención de muestra.

3.6.4 Criterios de Exclusión

- Pacientes Gestantes.
- Pacientes con terapia farmacológica que predisponga la presencia de gingivitis.
- Pacientes bajo tratamiento médico con antibióticos.
- Pacientes usen antisépticos orales o colutorios.

3.7. Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos

3.7.1. Técnicas

3.7.1.1 Guía de campo: Instrumento donde registramos la cantidad de bacterias en este cultivos que fueron tomadas a los 12 pacientes con gingivitis, así como colocar todos los datos obtenidos después de realizar el experimento es decir las medidas de los halos de inhibición.

3.7.1.2 Observación directa: Para sembrar en placas Petri estériles y a su vez hacer la medición del halo de inhibición después de las 48h de incubación.

3.7.2. Instrumento

Calibrador Vernier (Pie de Rey).

Regla milimetrada estándar.

Ficha de recolección.

CAPITULO IV

RESULTADOS

De acuerdo a lo reportado en este trabajo de investigación, cuyo objetivo fue Determinar el Efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) en comparación con la Clorexidina sobre cultivos de bacterias frecuentes en la gingivitis, las bacterias fueron cultivadas en un caldo de tioglicolato el cual es un medio de transporte y crecimiento y través del método de dilución en agar Schadler, en 12 muestras donde podemos demostrar las medidas de los halos de inhibición antibacteriana a las 48 horas.

FICHA RECOLECCIÓN DE DATOS (CUADRO N°2)

FLORA MIXTA DE BACTERIAS GINGIVALES	EXTRACTO DE ROSMARINUS OFFICINALIS (ROMERO)			CONTROL POSITIVO CLORHEXIDINA	CONTROL NEGATIVO AGUA DESTILADA
	25mg/ml	50mg/ml	75mg/ml		
CULTIVO N°1	16mm	15.9mm	17.2mm	15.9mm	0mm
CULTIVO N°2	14.5mm	15.7mm	17.2mm	16.8mm	0mm
CULTIVO N°3	15mm	16.1mm	17.2mm	16mm	0mm
CULTIVO N°4	15.2mm	15.9mm	16.4mm	16.2mm	0mm
CULTIVO N°5	14.4mm	15.5mm	17.5mm	16.7mm	0mm
CULTIVO N°6	14.6mm	16.3mm	17.5mm	17.7mm	0mm
CULTIVO N°7	15.8mm	15.8mm	16.3mm	14.8mm	0mm
CULTIVO N°8	13mm	14.5mm	16.7mm	16.4mm	0mm
CULTIVO N°9	13.9mm	16.2mm	16.9mm	15.9mm	0mm
CULTIVO N°10	15.9mm	16.8mm	17.8mm	16.9mm	0mm
CULTIVO N°11	16.4mm	16.5mm	16.6mm	16.2mm	0mm
CULTIVO N°12	15.7mm	16.1mm	16.2mm	16.2mm	0mm

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA (CUADRO N°3)

		25%	50%	75%	CLOREXIDINA
N	Válidos	12	12	12	12
	Perdidos	0	0	0	0
Media		15,033	15,942	16,958	16,308
Error típ. de la media		,2874	,1663	,1505	,2028
Mediana		15,100	16,000	17,050	16,200
Moda		13,0 ^a	15,9 ^a	17,2	16,2
Desv. típ.		,9957	,5760	,5213	,7025
Varianza		,992	,332	,272	,494
Rango		3,4	2,3	1,6	2,9
Mínimo		13,0	14,5	16,2	14,8
Máximo		16,4	16,8	17,8	17,7
Percentiles	25	14,425	15,725	16,450	15,925
	50	15,100	16,000	17,050	16,200
	75	15,875	16,275	17,425	16,775

Software SPSS V22

RANGO PROMEDIO (CUADRO N°4)

variables	25%	50%	75%	CLOREXIDINA	AGUA.DESTIL.
Media	15,033	15,942	16,958	16,308	0

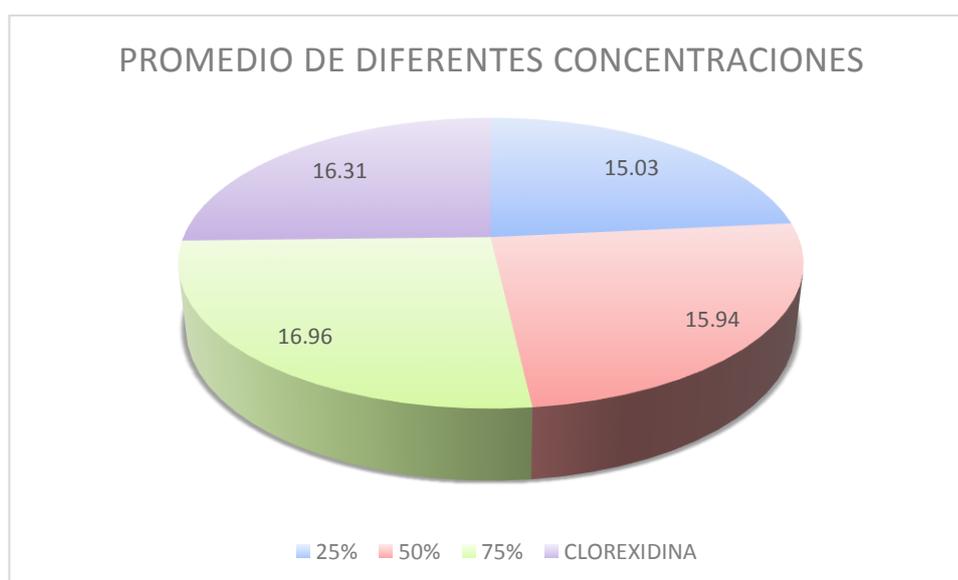


GRAFICO N°1 Rango promedio de los halos de las concentraciones de Rosmarinus officinalis

Software SPSS V22

DIFERENCIACIÓN LINEAL ENTRE LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES

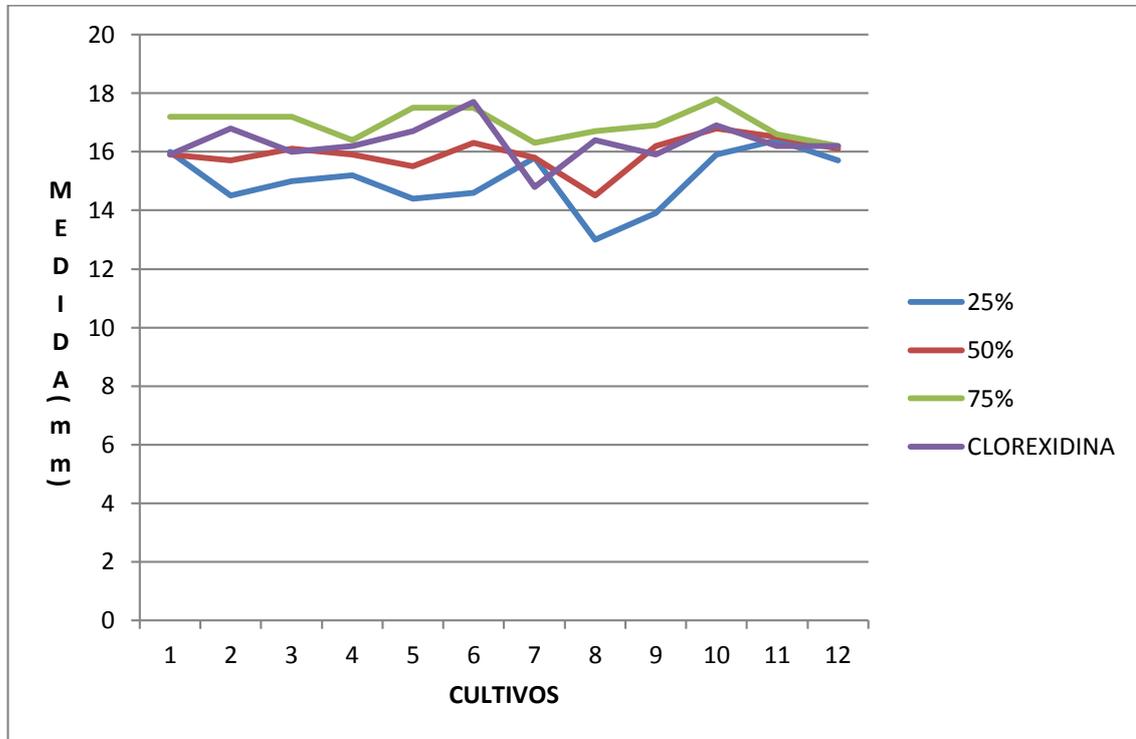


GRAFICO N°2 Promedio de los valores recogidos de las diferentes concentraciones del Rosmarinus officinalis (Romero) al 75%, 50%, 25% en comparación con la clorhexidina, la cual nos evidencia la diferencia significativa entre ella demostrando efecto (75%)y no efecto (25%, 50%) en comparación con la clorhexidina.

Tabla1
Comparación del 25% ERO con la clorhexidina

N°		
	muestras	Media
25 %	12	15,033
Clorexidina	12	16,308

Fuente: tabla de recolección de datos

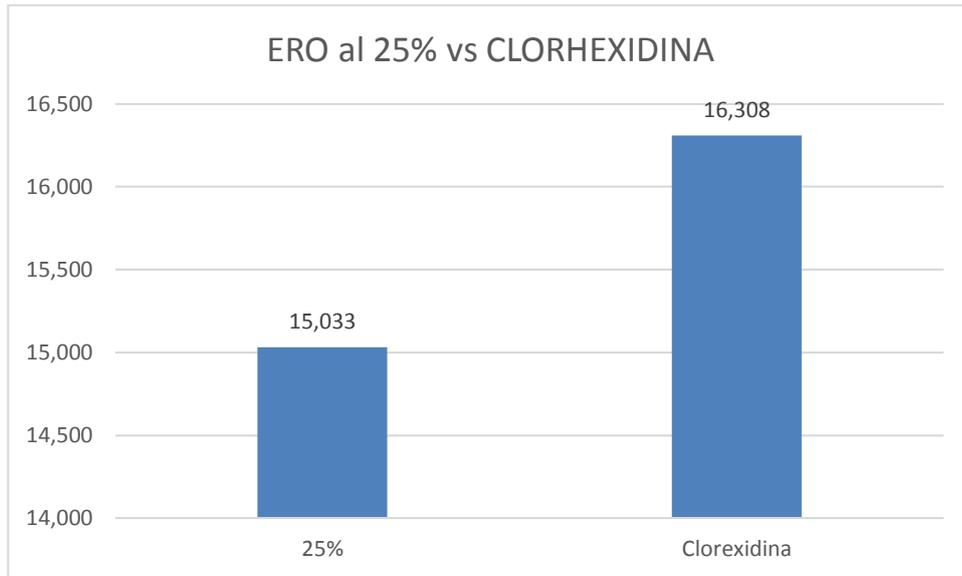
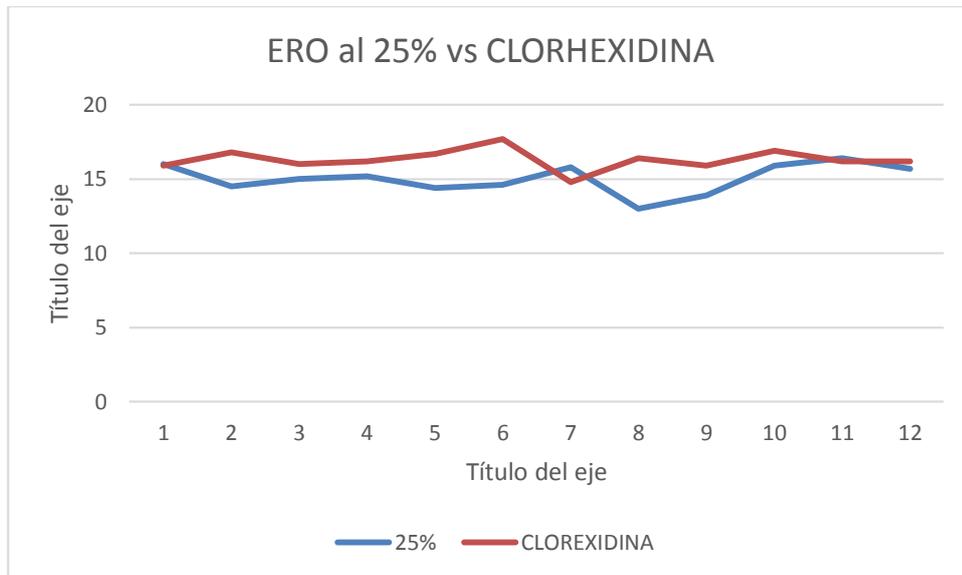


Figura 1. Comparación del 25% ERO con la clorexidina



GRAFICOS Nº3 Muestras de los valores recogidos según los halos de inhibición (mm) con respecto al efecto del Rosmarinus officinalis (Romero) al 25 % no hay efecto en comparación con la clorhexidina sobre cultivos de bacterias más frecuentes en la gingivitis.

Tabla2

Comparación del 50% ERO con la clorhexidina

	Nº muestras	Media
50 %	12	15,942
Clorexidina	12	16,308

Fuente: tabla de recolección de datos

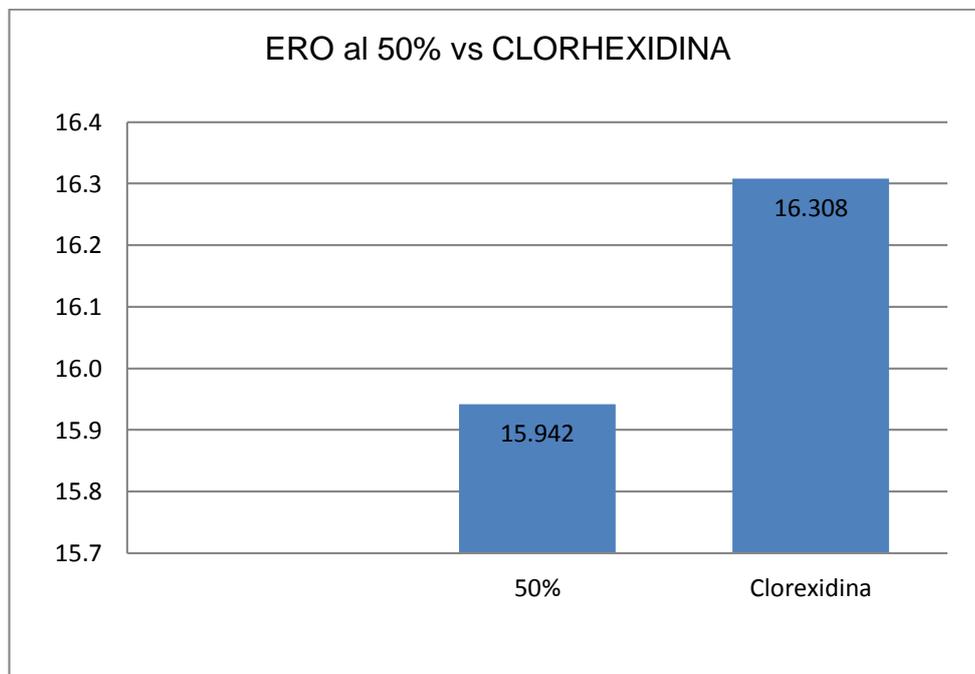
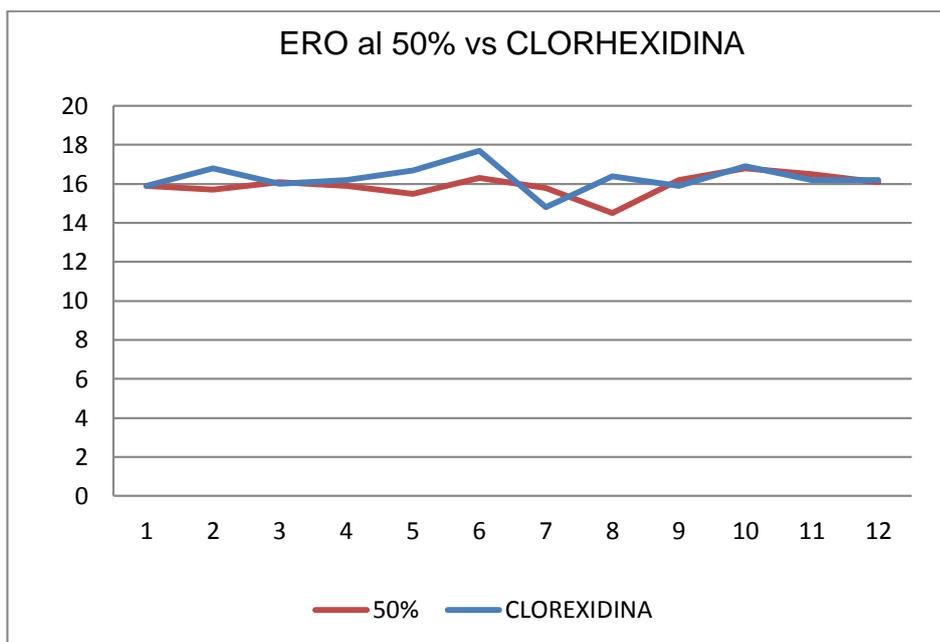


Figura 2. Comparación del 50% ERO con la clorhexidina



GRAFICOS N°4 Muestras de los valores recogidos según los halos de inhibición (mm) con respecto al efecto del *Rosmarinus officinalis* (Romero) al 50 % no hay efecto en comparación con la clorhexidina sobre cultivos de bacterias más frecuentes en la gingivitis.

Tabla3
Comparación del 75% ERO con la clorhexidina

	Nº muestras	Media
75 %	12	16,958
Clorexidina	12	16,308

Fuente: tabla de recolección de datos

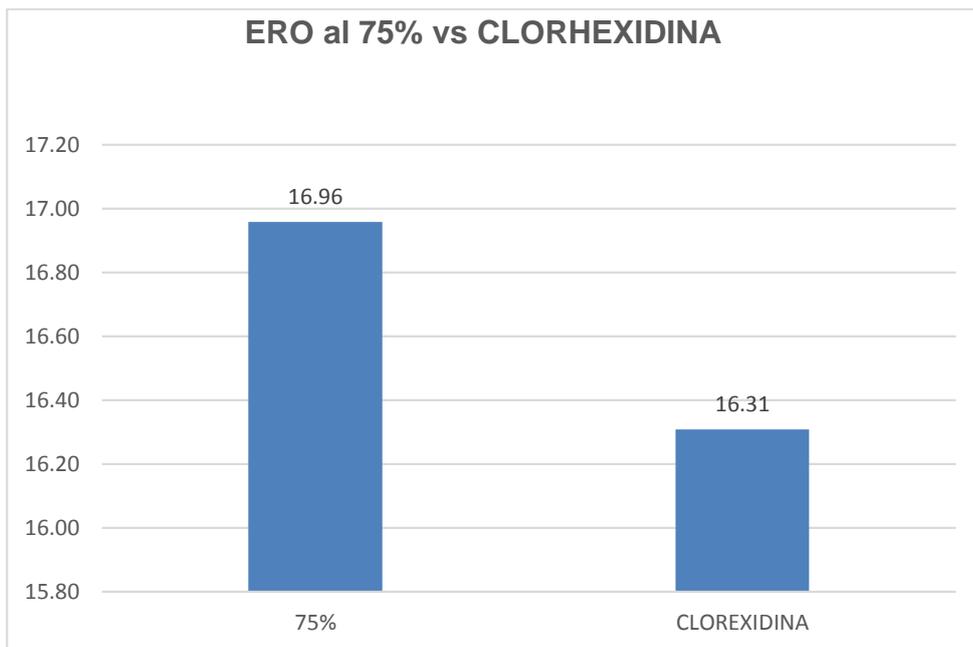
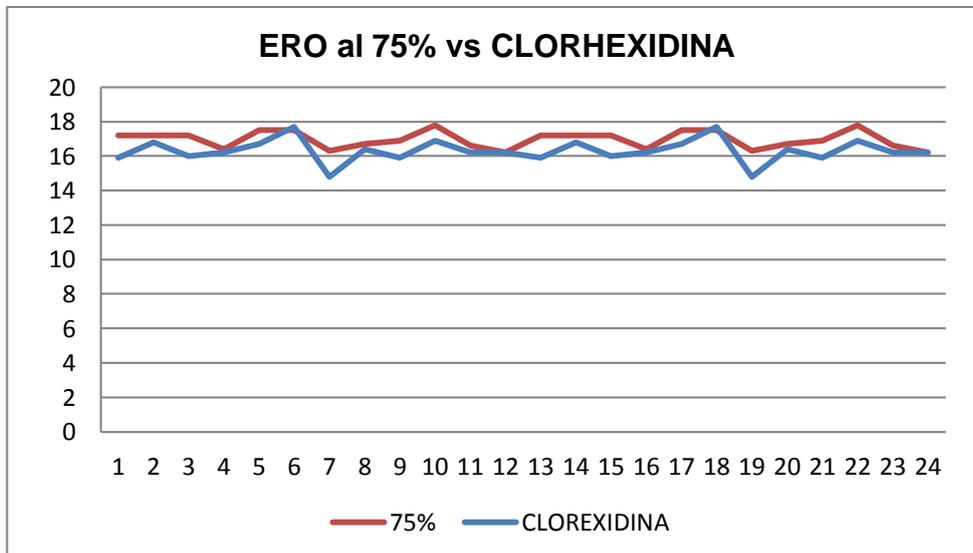


Figura 3. Comparación del 75% ERO con la clorhexidina



GRAFICOS N°5 Muestras de los valores recogidos según los halos de inhibición (mm) con respecto al efecto del Rosmarinus officinalis (Romero) al 75 % hay efecto mayor en comparación con la clorhexidina sobre cultivos de bacterias más frecuentes en la gingivitis.

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

En el presente estudio se eligió 12 pacientes adultos, todos ellos presentaron gingivitis diagnosticado en dicho centro a partir de una ficha de recolección de datos y que aún no habían iniciado tratamiento para dicha enfermedad.

Se colocó una punta de cono de papel N° 30 ò 35 dentro del saco periodontal durante 15 a 30 seg, procurando no alterar la forma del cono de papel. Se retiró la punta y se recolecto en un medio de transporte de caldo de Tioglicolato para mantener la viabilidad del microorganismo.

Una vez obtenida la muestra, esta fue transportada al laboratorio en tubos de caldo de Tioglicolato para su incubación a 37 °C por 24 horas.

Se procedió a la dilución de la muestra utilizando suero fisiológico estéril, cuya turbidez de la suspensión se ajustó al estándar 0.5 de la escala de McFarland (1-2x10⁸UFC/ml), esto garantizo que la cantidad de bacterias inoculadas en cada una de las placas sea la misma.

La prueba de susceptibilidad antimicrobiana se realizó por el método de difusión en pocillos.

En la presente investigación se buscó determinar el efecto antibacteriano del extracto de *Rosmarinus officinalis* (Romero) in vitro en comparación con la clorhexidina sobre cultivos de bacterias más frecuentes en gingivitis según las concentraciones de 25%, 50%, 75%, lo cual ha quedado demostrado que existe un efecto de inhibición del desarrollo bacteriano con *Rosmarinus officinalis* (Romero) en un 75% en comparación con la clorhexidina, además se encontró diferencias significativas con respecto al tamaño del halo de inhibición ante las diferentes concentraciones de *Rosmarinus officinalis* (Romero).

En el gráfico N°1, se ilustra las medias de los halos de inhibición agrupadas en tres distintas concentraciones del *Rosmarinus officinalis* (Romero), donde se observó que las medias promedios de los halos de inhibición formados por las concentraciones de 75%, muestra mayor efecto en comparación con la clorhexidina, a diferencia de las concentraciones del 50 y 25%.

Con el presente estudio se determinó el efecto antibacteriano de *Rosmarinus officinalis* (Romero), en comparación con la clorhexidina, sobre cultivos de bacterias más frecuentes en gingivitis presentando halos de inhibición de mayor diámetro en concentración del 75%. Mientras que los halos de inhibición de menor diámetro fueron con la concentración del 25%.

Teixeira L (BRASIL, 2012) El objetivo de este estudio fue determinar, in vivo, la actividad antimicrobiana del extracto de *Rosmarinus officinalis* Linn, en las bacterias orales presentes en el biofilm y están relacionados con la caries dental y la enfermedad periodontal, en ese entonces los porcentajes usados del *Rosmarinus officinalis* no hubo efecto en comparación con la clorhexidina con este estudio in vitro queda aperturado nuevas investigaciones ya que el ERO en 75% presenta un efecto favorable.

Bustamante CO, Carranza SL, Mostacero SL, Mostacero SI, Ruiz BM (PERU, 2013) El objetivo fue determinar el efecto inhibitorio de la infusión del *Rosmarinus Officinalis* sobre *Streptococcus mutans*, con el fin de controlar procesos cariogénicos y formación de placa bacteriana en la cavidad oral, se usaron concentraciones de infusión de romero: 0%, 20% y 40 % durante 1 y 5 minutos respectivamente, con este estudio realizado demostramos que con la concentración de 75 % de *Rosmarinus officinalis* (Romero) hay efecto antibacteriano frente a bacterias de la gingivitis la cual podrá ayudar en profundizar dicho estudios en concentraciones superiores 40 %.

San Román SI (PERU, 2013) El objetivo de este estudio fue determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *R. officinalis* in vitro sobre cultivos de bacterias anaerobias frecuentes en pacientes con periodontitis

crónica, De los resultados se comprobó que existe igual actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *R. officinalis* a una concentración de 75mg/ml con la clorhexidina 0,12 % sobre cultivos de bacterias anaerobias frecuentes en pacientes con periodontitis crónica.

Con este estudio queda demostrado que si existen antecedentes sobre el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *R. officinalis* frente a bacterias periodontales los cuales van ser de utilidad para otras investigaciones futuras.

CAPITULO VI CONCLUSIONES

El extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (Romero) presenta efecto antibacteriano *in vitro* en comparación con la clorhexidina al 0,12% sobre cultivos de bacterias más frecuentes en gingivitis.

El efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (Romero) a 75 % tiene mayor efecto con una media de 16.9mm de diámetro en comparación con la clorhexidina al 0,12 % con una media de 16,3 mm de diámetro por lo que se concluye que es más efectivo usar sobre cultivos de bacterias más frecuentes en gingivitis.

El efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (Romero) a 50 % no tiene efecto con una media de 15,9mm de diámetro en comparación con la clorhexidina al 0,12 % con una media de 16,3 mm de diámetro por lo que se concluye que no es efectivo usar sobre cultivos de bacterias más frecuentes en gingivitis.

El efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (Romero) a 25 % no tiene efecto con una media de 15.0mm de diámetro en comparación con la clorhexidina al 0,12 % con una media de 16,3 mm de diámetro por lo que se concluye que no es efectivo usar sobre cultivos de bacterias más frecuentes en gingivitis.

A medida que se aumenta la concentración del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (Romero), se obtiene un mayor diámetro del halo de inhibición, logrando superar el efecto antibacteriano alcanzada por la clorhexidina al 0,12% sobre cultivos de bacterias más frecuentes en gingivitis.

CAPÍTULO VII

RECOMENDACIONES

Realizar investigaciones con soluciones de extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (Romero), en concentraciones mayores a 75% y compararlo con la clorhexidina al 0,12 %.

Realizar estudios antiinflamatorias con el extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (Romero), en pacientes con diagnóstico de enfermedad gingival y periodontal con el fin de verificar si existe efecto antiinflamatorio in vivo.

Ampliar la investigación hacia formulaciones de pastas dentales, enjuagues bucales y colutorios que contengan extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (Romero).

Realizar más estudios que demuestren las propiedades de *Rosmarinus officinalis* (Romero) y pueda crearse medicamentos para la terapéutica odontológica.

Se sugiere hacer trabajos de investigación para evaluar el efecto de *Rosmarinus officinalis* (Romero), sobre otras bacterias en cavidad oral que están relacionadas con patologías orales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.- Hernández MR, Galle JM. Plantas Medicinales. 12ava edición. México: Árbol editorial; 1981.
- 2.- Teixeira L. Avaliação do uso do Extracto de Alecrim de Jardim (*Rosmarinus Officinalis* Linn) no controle do biofilme dental. Curitiba. 2012.
- 3.- Firmino CJ, Ripoll CS. Manual de Higiene Bucal. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2009.
- 4.- Matesanz PP, Matos CR, Bascones MA. Enfermedades gingivales: una revisión de la literatura. Av periodon Implantol. 2008; 20(1):11-25.
- 5.- Villalobos O, Salazar VC, Ramírez de Sanchés G. Efecto de un enjuague bucal compuesto de aloe vera en la placa bacteriana e inflamación gingival. SciELO. 2001.
- 6.- San Román SI. Actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (Romero) sobre cultivos de bacterias anaerobias frecuentes en pacientes con bolsa periodontal. (Tesis para obtener el título de cirujano dentista). Lima. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2013.
- 7.- Purca TP. Efectividad antibacteriana "in vitro" del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre flora salival. (Tesis para obtener el título de cirujano dentista). Lima. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2013.
- 8.- Bustamante CO, Carranza SL, Mostacero SL, Mostacero SI, Ruiz BM. Efecto inhibitorio in vitro de *Rosmarinus officinalis* sobre streptococos de la composición química de los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis*, tomillo y cúrcuma de Colombia. 2013; 18(2):237-248.

- 9.- Ramos AM. Evaluación de la actividad antimicrobiana de aceites esenciales e hidrosoles de *Rosmarinus officinalis* y *Taraxacum officinale* frente a microorganismos patógenos. (Tesis para obtener el título de microbiólogo industrial). Colombia. Pontificia universidad javeriana; 2013.
- 10.- Teixeira L. Avaliação do uso do Extracto de Alecrim de Jardim (*Rosmarinus Officinalis* Linn) no controle do biofilme dental. Curitiba. 2012.
- 11.- Estrada SP, determinación de la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos de romero (*Rosmarinus Officinalis*) y tomillo (*thymus vulgaris*). (Tesis para obtener el título de bioquímico farmacéutico). Ecuador. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2010.
- 12.- Herrera N. Diplomados de en enfermería de consorcio Hospital General Universitario de Valencia (CHGUV). Primera edición. España: Editorial mad, S.I; 2004.
- 13.- Rodríguez E, Arias A, Vásquez E, Martínez J. Rendimiento y capacidad antioxidante de extractos de *Rosmarinus Officinalis*, *Salvia Officinalis* y *psidium*. Rev. ACAD. COLOMBIA.
- 14.- Morante MS. Valoración cruzada y a doble ciego, mediante el modelo de gingivitis experimental, de la eficacia de tres colutorios de clorhexidina sin alcohol frente a la prevención de gingivitis y a la neoformación de placa supra gingival. (Tesis doctoral). Madrid. Universidad Complutense de Madrid; 2003.
- 15.- Bascones MA, Mudurra MS, Perea PE. Antisépticos en el tratamiento de la enfermedad periodontal. Av Periodon Implantol. 2002; 14,3: 101-114.
- 16.- Becton Dickinson GmbH, Instrucciones de uso – medios en placa listos para usar, Germany. Rev: Sep 2011.

17.- Marcelo Galas – Paola. Determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos por método de difusión. Manual de control de calidad. Servicio Antimicrobianos – Departamento Bacteriología – INEI – ANLIS”Dr. C. G. Malbrán”; pag:12-30.

18.- Marcelo Galas – Paola. Control de calidad de los instrumentos de laboratorio bacteriológico. Manual de control de calidad. Servicio Antimicrobianos – Departamento Bacteriología – INEI – ANLIS”Dr. C. G. Malbrán”; pag: 31-61.

19.- Club de Informática Médica y Telemedicina (Universidad de Panamá). **Método de Jarra y Vela**. Telmeds.org [publicada en línea]. 2009(10). [Citado 03 de Dec de 2015]. Disponible en: <http://www.telmeds.org/atlas/bacteriologia/microorganismos-anaerobios/metodo-de-jarra-y-vela/>.

20.- Crespo SD, Escribano JE, Ferrer AF, Lrente Os, Marin OA, Martinez SM, etal. Recogida, transporte y conservación de muestras microbiológicas. Complejo hospitalario de Albacete. 2010; pag:61.

21.- Negroni M, Microbiología Estomatológica: fundamentos y guía de práctica. 2da edición. Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2009.

ANEXO

ANEXO 1
MATRIZ DE CONSISTENCIA

“EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO DE ROSMARINUS OFFICINALIS (ROMERO) IN VITRO EN COMPARACIÓN CON LA CLOREXIDINA, SOBRE CULTIVOS DE BACTERIAS MAS FRECUENTES EN GINGIVITIS”

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLE	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	TECNICA Y MÉTODO	INSTRUMENTOS
<p>Efecto antibacteriano del extracto de Rosmarinus Officinalis (Romero) in vitro en comparación con la clorhexidina, sobre cultivos</p>	<p>Objetivo general Determinar el Efecto antibacteriano in vitro del extracto de Rosmarinus Officinalis (Romero) en comparación con la clorhexidina, sobre cultivos frecuentes en la gingivitis.</p> <p>Objetivo específico Determinar el efecto antibacteriano in vitro del</p>	<p>Hipótesis general Existe Efecto antibacteriano in vitro del extracto de Rosmarinus Officinalis (Romero) in vitro en comparación con la clorhexidina, sobre cultivos de bacterias frecuentes en la gingivitis.</p> <p>Hipótesis específicas Existe efecto antibacteriano in vitro del extracto de Rosmarinus Officinalis (Romero) al 25% en comparación con la clorhexidina,</p>	<p>variable independiente Concentración de Extracto de Rosmarinus officinalis(Romero).</p>	<p>Porcentaje del extracto de Rosmarinus officinalis (Romero)</p>	<p>Discreta</p> <p>continua</p>	<p>Técnica Nivel : Explicativo</p> <p>Tipo : Experimental Prospectivo Longitudinal Analítico</p>	<p>Lupa</p> <p>Pie de rey</p> <p>Ficha de recolección de datos</p>

<p>frecuentes en la gingivitis</p> <p>Problema específico</p> <p>¿Cuál es el efecto antibacteriano del extracto de <i>Rosmarinus Officinalis</i> (Romero) in vitro al 25%, 50%, 75%, sobre cultivos de bacterias frecuentes en la gingivitis?</p>	<p>extracto de <i>Rosmarinus Officinalis</i> (Romero) al 25% en comparación con la clorhexidina, sobre cultivos de bacterias frecuentes en la gingivitis.</p> <p>Determinar es el efecto antibacteriano in vitro del extracto de <i>Rosmarinus Officinalis</i> (Romero) al 50% en comparación con la clorhexidina sobre cultivos de bacterias frecuentes en la gingivitis.</p> <p>Determinar es el efecto antibacteriano in vitro del extracto de <i>Rosmarinus Officinalis</i> (Romero) al 75% en comparación con la clorhexidina sobre cultivos de bacterias frecuentes en la gingivitis.</p>	<p>sobre cultivos de bacterias frecuentes en la gingivitis.</p> <p>Existe efecto antibacteriano in vitro del extracto de <i>Rosmarinus Officinalis</i> (Romero) al 50% en comparación con la clorhexidina ,sobre cultivos de bacterias frecuentes en la gingivitis.</p> <p>Existe efecto antibacteriano in vitro del extracto de <i>Rosmarinus Officinalis</i> al 75% en comparación con la clorhexidina, sobre cultivos de bacterias frecuentes en la gingivitis.</p>	<p>Variable dependiente</p> <p>Actividad antibacteriana</p>	<p>Medición del halo de inhibición en milímetros formado alrededor del pocillo inoculado con el extracto de <i>Rosmarinus officinalis</i> (Romero)</p>		<p>Diseño :</p> <p>Cuasi-experimental</p>	
--	---	--	--	--	--	--	--

ANEXO 02

“EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO DE *ROSMARINUS OFFICINALIS*
(ROMERO) IN VITRO EN COMPARACIÓN CON LA CLORHEXIDINA, SOBRE
CULTIVOS DE BACTERIAS MAS FRECUENTES EN GINGIVITIS”

FICHA DE RECOLECCIÓN DE MUESTRA

I.- DATOS DEL PACIENTE

- NOMBRE:
- EDAD :

II.- ANTECEDENTES

- Presenta enfermedades sistémicas SI NO
- Presenta medicación médica SI SI

III.- EXAMEN CLINICO

- GIINGIVITIS GENERALIZADA
- GINGIVITIS LOCALIZADA

Nº de pieza

CATEGORIAS DEL INDICE GINGIVAL DE SILNESS Y LOE	CLINICA
SANO	
GINGIVITIS LEVE	
GINGIVITIS MODERADA	
GINGIVITIS SEVERA	

DIAGNOSTICO DEFINITIVO:

ANEXO 03

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título de la investigación: “EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO DE *ROSMARINUS OFFICINALIS* (ROMERO) IN VITRO EN COMPARACIÓN CON LA CLORHEXIDINA SOBRE CULTIVOS DE BACTERIAS MAS FRECUENTES EN GINGIVITIS”

Investigador : TIBURCIO ROJAS MARIA MILAGROS

Institución : UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS

Objetivo de la investigación: Determinar el Efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Rosmarinus Officinalis (Romero)* en comparación con la Clorhexidina sobre cultivos de bacterias frecuentes en gingivitis.

Procedimientos que se seguirán durante la investigación

Se revisó la ficha de datos de cada paciente y se realizó el examen clínico y selecciono la pieza que presentaba gingivitis. Se colocó una punta de papel N° 30 o 35 dentro del saco periodontal durante 15 a 30 seg, procurando no alterar la forma del cono de papel. Se retira la punta y se recolecto en un medio de transporte para mantener la viabilidad del microorganismo.

Confidencialidad:

La ficha de datos en la cual se identifica a usted y el consentimiento informado que firmó serán revisados por el investigador. Los resultados de esta investigación podrán presentarse para su exposición, sin embargo, su identidad no será divulgada en tales presentaciones.

Consentimiento:

He leído y conversado con el investigador sobre esta hoja de información y formato de consentimiento y entiendo el contenido. Por tanto doy consentimiento voluntario para participar en la investigación.

APELLIDOS Y NOMBRES :

DNI :

Alumno

paciente

ANEXO 4



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la Diversificación Productiva y del Fortalecimiento de la Educación"

CONSTANCIA N° 227-USM-2015

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (tallo, hojas) recibida de **María Milagros TIBURCIO ROJAS**; alumna de la Universidad Alas Peruanas de la Fac. de Medicina Humana y Ciencias de la Salud de la Escuela Académica Estomatología; ha sido estudiada y clasificada como: ***Rosmarinus officinalis* L.** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ASTERIDAE

ORDEN: LAMIALES

FAMILIA: LAMIACEAE

GENERO: *Rosmarinus*

ESPECIE: *Rosmarinus officinalis* L.

Nombre vulgar: "romero"

Determinado por Mag. Hamilton Beltrán Santiago.

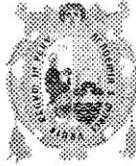
Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.



Fecha, 28 de octubre de 2015


Dra. Haydee Montoya Terreros
JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ANEXO 5



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE QUÍMICA E INGENIERÍA QUÍMICA

Central: 619 7000 anexos 1202, 1203, 1205, 1206, 1207 Telefax: 1209, 1218
Ciudad Universitaria - Pabellón B - Calle Germán Amezaga N.º 375 - Lima 1

“Año de la Diversificación Productiva y del Fortalecimiento de la Educación”

DECANATO

El Decano de la Facultad de Química e Ingeniería Química de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, deja

CONSTANCIA

Que la **Srta. María Milagros Tiburcio Rojas**, alumna de la Universidad Alas Peruanas de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud de la Escuela Académica Estomatología ha realizado la extracción etanólica de la planta *Rosmarinus officinalis* cuyo nombre común es “romero”, especie vegetal proveniente del Valle de Tarma-Junín, a una concentración de 150 g en 600 ml de suspensión etanólica, 100 g en 400 ml de suspensión etanólica y 50 g en 200 ml de suspensión etanólica, la misma que fue macerada durante una semana, luego filtrada y concentrada en el rotavapor obteniendo los porcentajes de 75%, 50% y 25%.

Toda esta ejecución lo realizó la alumna en el Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Química e Ingeniería Química de la UNMSM, bajo el asesoramiento de la Mg. Gloria Eva Tomas Chota.

Se expide la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Ciudad Universitaria, 25 de noviembre del 2015


Mg. Cesarío Condorhuaman Ccorimanya
Decano



/cyp

Nombre : Cesarío Condorhuaman Ccorimanya
Decano de la Facultad de Química e Ingeniería Química
Email : ccondorhuamanc@unmsm.edu.pe

ANEXO 6



“Año de la diversificación productiva y del fortalecimiento de la educación”

**CERTIFICADO DE LA EJECUCIÓN DEL PROCESO MICROBIOLÓGICO DE
LA TESIS “EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO DE *Rosmarinus
officinalis* (ROMERO) IN VITRO EN COMPARACION CON LA CLOREXIDINA
SOBRE CULTIVOS DE BACTERIAS FRECUENTES EN GINGIVITIS”**

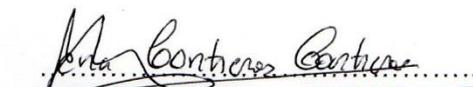
CONSTANCIA

Yo Ana Melva Contreras Contreras con DNI 17895446, de profesión Biólogo con N° de colegio 2850 Maestra en Ciencias Mención: Microbiología Clínica.

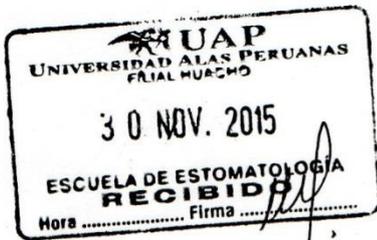
Dejo constancia y doy fe que, María Milagros Tiburcio Rojas egresada de la Universidad Alas Peruanas de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud de la Escuela Académica de Estomatología, ha ejecutado el procedimiento Microbiológico indicado en la Metodología del trabajo de investigación para obtener el título profesional en Estomatología, el procedimiento Microbiológico en mención consta en: Extracción de la muestra problema de los pacientes con gingivitis, Dilución en la escala de Mcfarland, siembra por difusión en las placas con agar Schadler; aplicación de los pocillos de las concentraciones (25%, 50%, 75%) del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (Romero) y posterior lectura de los resultados, el procedimiento se desarrolló en los ambientes del laboratorio de Ciencias De La Salud de la Universidad Alas Peruanas Filial Huacho.

En ejercicios de mi profesión extiendo la presente constancia para fines de investigación.

Huacho, 27 de noviembre del 2015


Ana Melva Contreras Contreras
CBP 2850


BIOLOGA M.S. C. Ana M. Contreras Contreras
MENCION: MICROBIOLOGIA CLINICA
C.B.P. 2850



ANEXO 7

“Año de la Diversificación Productiva y del Fortalecimiento de la Educación”

CD. Javier Ramos De Los Ríos

Director de la Escuela Académica Profesional de Estomatología

Universidad Alas Peruanas- Filial Huacho

ASUNTO: Permiso para sacar muestras microbiológicas a las pacientes que acuden a la clínica de la UAP

Yo María Milagros Tiburcio Rojas con DNI 71853171 con domicilio en Irrigación Santa Rosa centro poblado La Villa-Sayán.

Ante Ud. con el debido respeto me presento y expongo:

Que a pocos meses de haber terminado satisfactoriamente mi x ciclo en la Escuela Académica Profesional estomatología, pido a su persona me otorgue el permiso para poder evaluar y realizar muestras a los pacientes que acuden a la clínica estomatológica de la Universidad Alas Peruanas Filial Huacho, con el fin de corroborar a una correcta elaboración de mi tesis.

Sin otro inconveniente me despido formalmente no sin antes agradecerle anticipadamente por la ayuda brindada, espero su pronta y afirmativa respuesta.

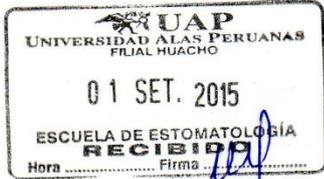
Huacho 20 de octubre del 2015

ANEXO 8



FILIAL HUACHO

125 - 0010478



SOLICITO: Permiso para el laboratorio y Materiales

SEÑOR: Director de la escuela profesional de odontología

APELLIDO PATERNO: Tiburcio APELLIDO MATERNO: Rojas NOMBRES: María Huagos

Documento de Identidad: 71853171 Carrera Profesional: Estomatología (DNI, L.M Boleta)

Código: 2009122581 Ciclo: Egresada Turno: Teléfono: 980684338 E-mail: Huagos_204@hotmail.com

Ante Ud. con el debido respeto me presento y expongo: Solicito permiso para utilizar el laboratorio y algunos materiales de la UAP para realizar mi tesis experimental para obtener el título de Cirujano dentista.

Agradeciendo anticipadamente su atención, quedo de Usted.

Atentamente,

[Signature]

Huacho, 01 de 09 del 2015

Adjunto:

- 1.-
2.-
3.-
4.-



Lic. Huagos
Por favor darle las facilid
a la alumna por tratarse de un
trabajo de Tesis Gratis

HUACHO: Av. Jorge Chávez N° S/N Barrio Chururo Hualmay - Huaura - Lima Telf.:(01)239 5606 / (01)239 5617
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

ANEXO 9



FILIAL HUACHO

125 - 0011838

SOLICITO: PERMISO DE AMBIENTE DE LA CLINICA

SEÑOR: JEFA DE LA CLINICA ESTOMATOLÓGICA DE LA UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS

TIBURCIO APELLIDO PATERNO ROTAS APELLIDO MATERNO MARÍA MILAGROS NOMBRES

Documento de Identidad: 71853171 Carrera Profesional: ESTOMATOLOGIA (DNI, L.M Boleta)

Código: 2009122581 Ciclo: EGRESADA Turno: Teléfono: 983267956 E-mail: Milagros_20t@hotmail.com

Ante Ud. con el debido respeto me presento y expongo: Que estando realizando la ejecución de mi tesis necesito en ambiente de la clinica estomatologica para tomar muestras microbiologicas a pacientes que acuden a dicho ambiente.

Agradeciendo anticipadamente su atención, quedo de Usted.

Atentamente, [Signature]

Huacho, 20 de 11 del 2015

- Adjunto: 1.- 2.- 3.- 4.-

ANEXO 10

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS MEDIDA DE HALO DE INHIBICION EN PLACA A. SHADLER

FLORA MIXTA DE BACTERIAS GINGIVALES	EXTRACTO DE ROSMARINUS OFFICINALIS (ROMERO)			CONTROL POSITIVO CLORHEXIDINA	CONTROL NEGATIVO AGUA DESTILADA
	25mg/ml	50mg/ml	75mg/ml		
CULTIVO N°1	16mm	15.9mm	17.2mm	15.9mm	0mm
CULTIVO N°2	14.5mm	15.7mm	17.2mm	16.8mm	0mm
CULTIVO N°3	15mm	16.1mm	17.2mm	16mm	0mm
CULTIVO N°4	15.2mm	15.9mm	16.4mm	16.2mm	0mm
CULTIVO N°5	14.4mm	15.5mm	17.5mm	16.7mm	0mm
CULTIVO N°6	14.6mm	16.3mm	17.5mm	17.7mm	0mm
CULTIVO N°7	15.8mm	15.8mm	16.3mm	14.8mm	0mm
CULTIVO N°8	13mm	14.5mm	16.7mm	16.4mm	0mm
CULTIVO N°9	13.9mm	16.2mm	16.9mm	15.9mm	0mm
CULTIVO N°10	15.9mm	16.8mm	17.8mm	16.9mm	0mm
CULTIVO N°11	16.4mm	16.5mm	16.6mm	16.2mm	0mm
CULTIVO N°12	15.7mm	16.1mm	16.2mm	16.2mm	0mm

ANEXO 11

FOTOS



Reconocimiento del Romero en la UNMSM

Extracción etanólica de *Rosmarinus Officinalis* (Romero)



DESOJANDO EL
ROMERO



HOJAS DE ROMERO
TRITURADAS



MACERAMIENTO DEL ROMERO
EN ETANOL 80 GRADOS



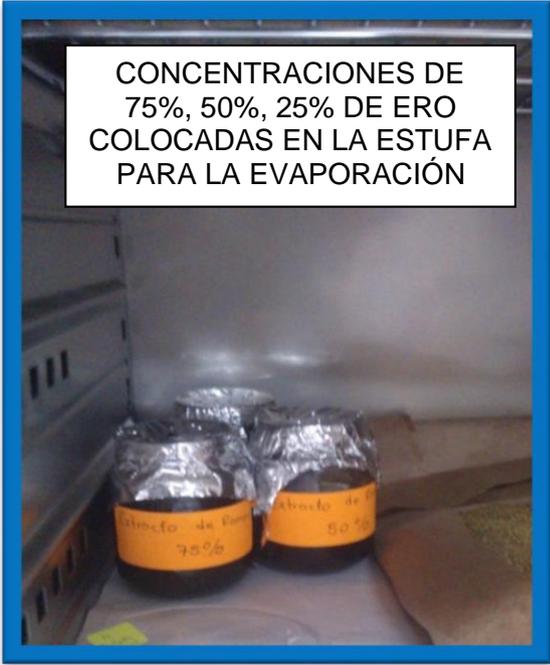
REALIZANDO LAS
CONCENTRACIONES DEL **ERO** EN
EL ROTAVAPOR



ROTAVAPOR



CONCENTRACIONES DE 75%, 50%, 25% DE ERO

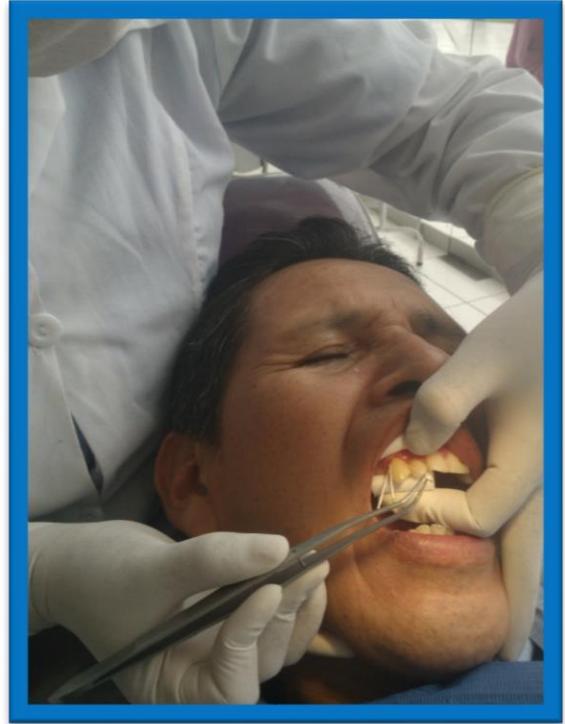
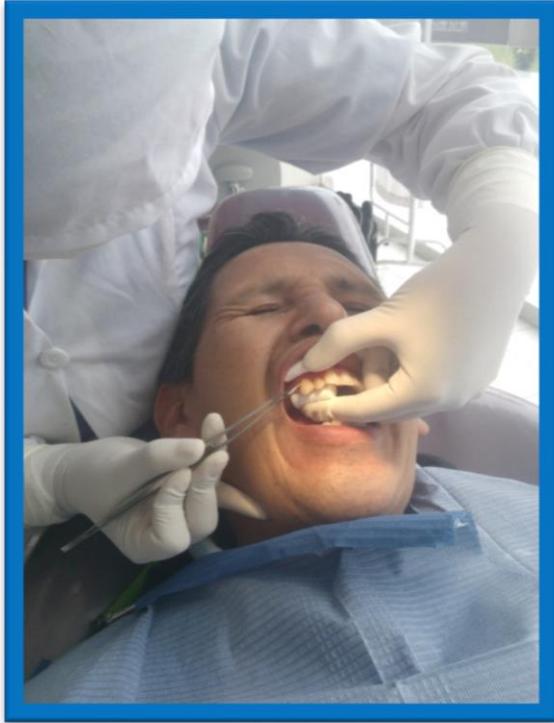


CONCENTRACIONES DE 75%, 50%, 25% DE ERO COLOCADAS EN LA ESTUFA PARA LA EVAPORACIÓN



CULMINACIÓN DE LA PREPACION DE ERO EN LA UNMSM

TOMA DE MUESTRA A PACIENTES



COLOCACIÓN DE CONOS DE PAPEL EN LAS PIEZAS CON GINGIVITIS



COLOCACIÓN DE CONOS DE PAPEL ENBEBIDOS CON LAS BACTERIAS EN EL CALDO TIOGLICOLATO

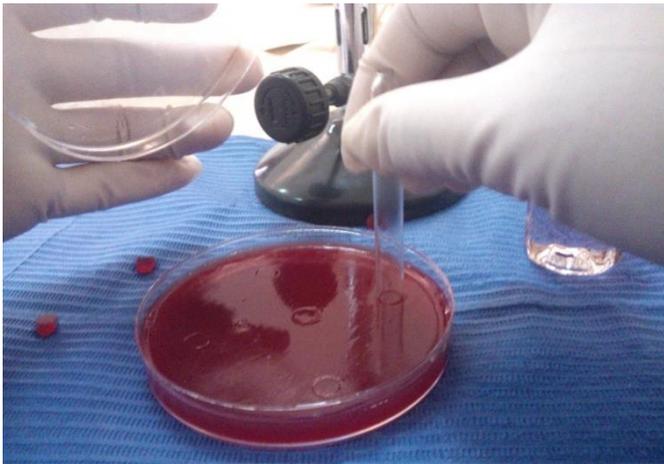
SIEMBRA MICROBIOLÓGICA E INCUBACIÓN



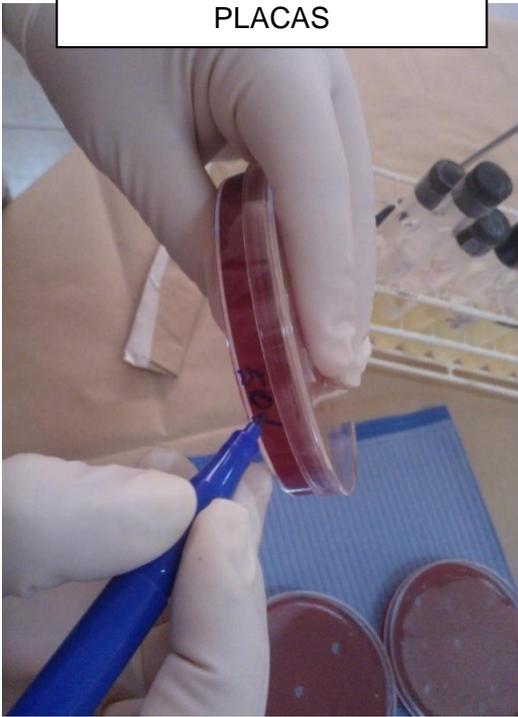
ENBEBIENDO EL ISOPO ESTERIL CON LAS BACTERIA DE LA GINGIVITIS.



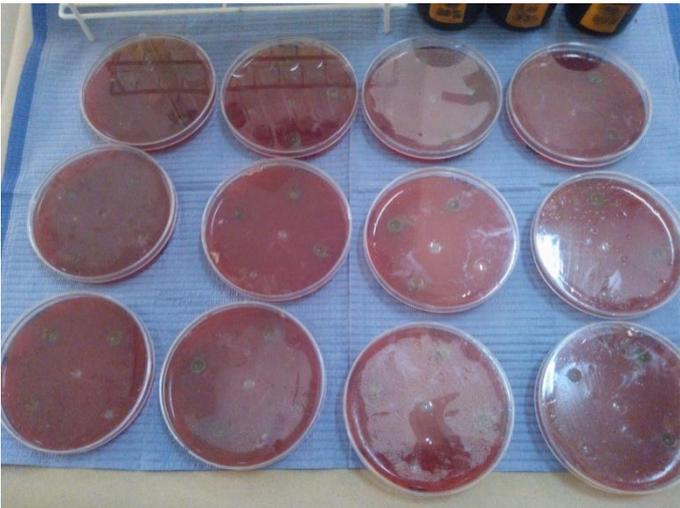
REALIZACION DE LOS POCILLOS
CON SOCABOCADO DE 5 mm



ROTULACIÓN DE LAS
PLACAS



COLOCACIÓN DE ERO EN
LOS POCILLOS

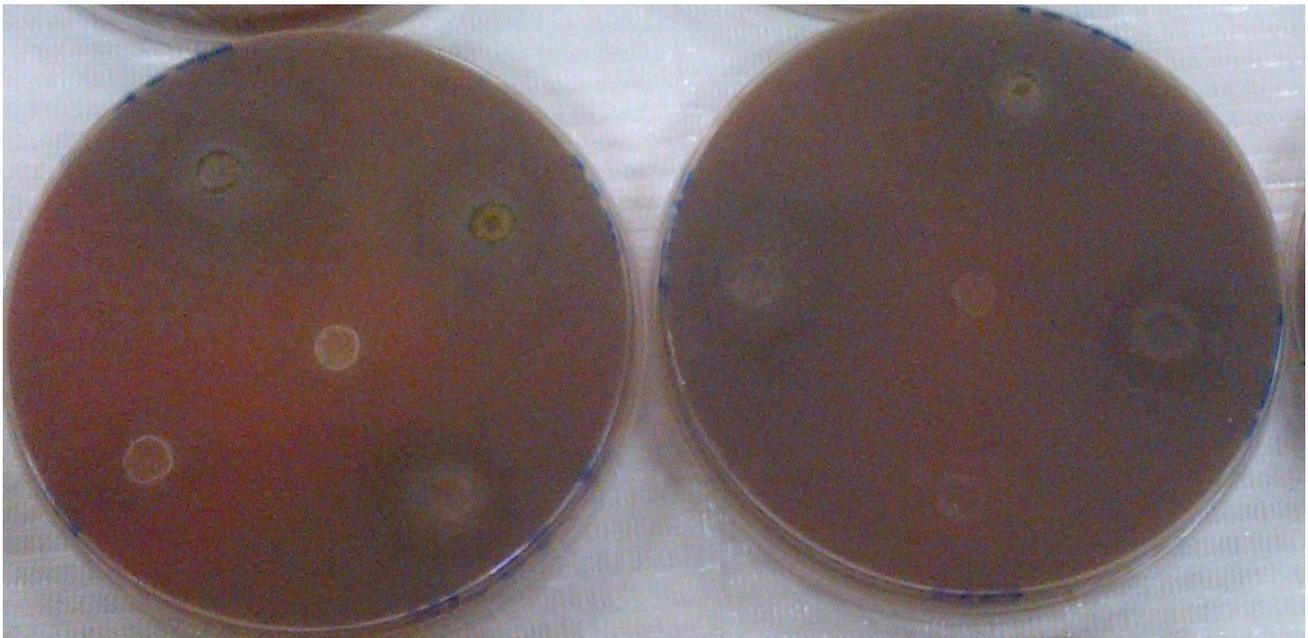
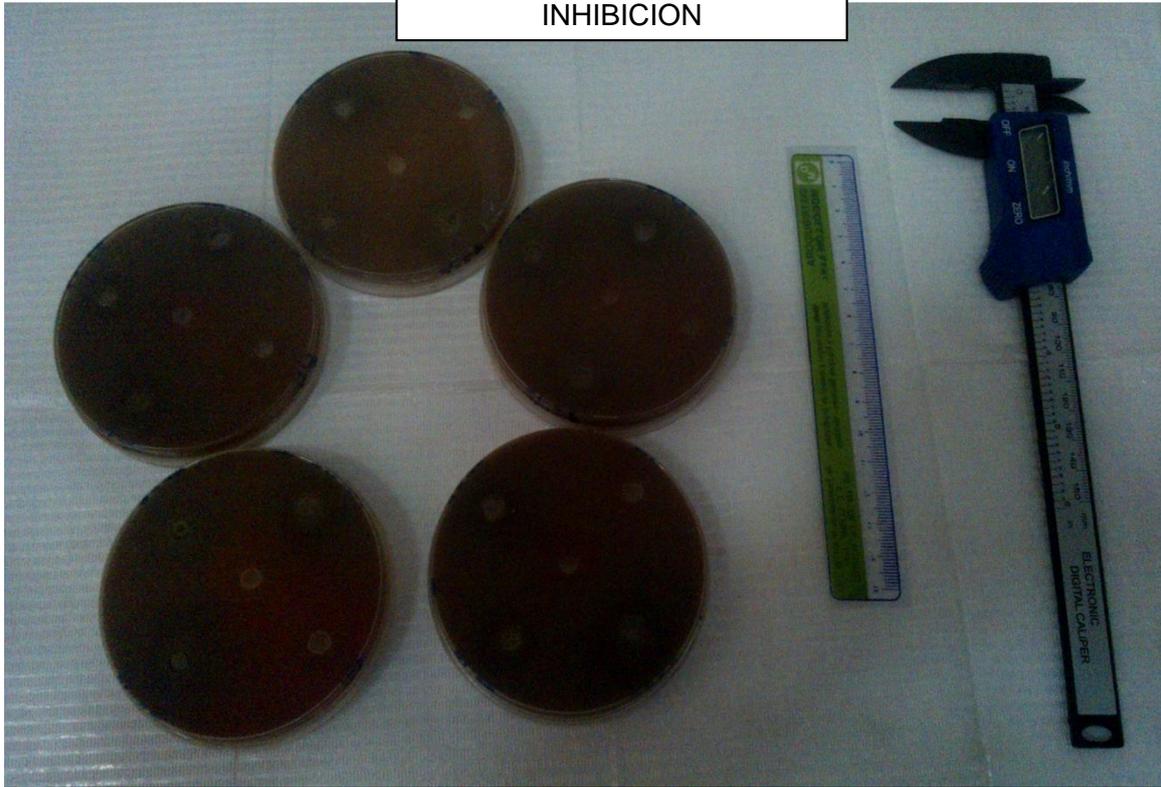


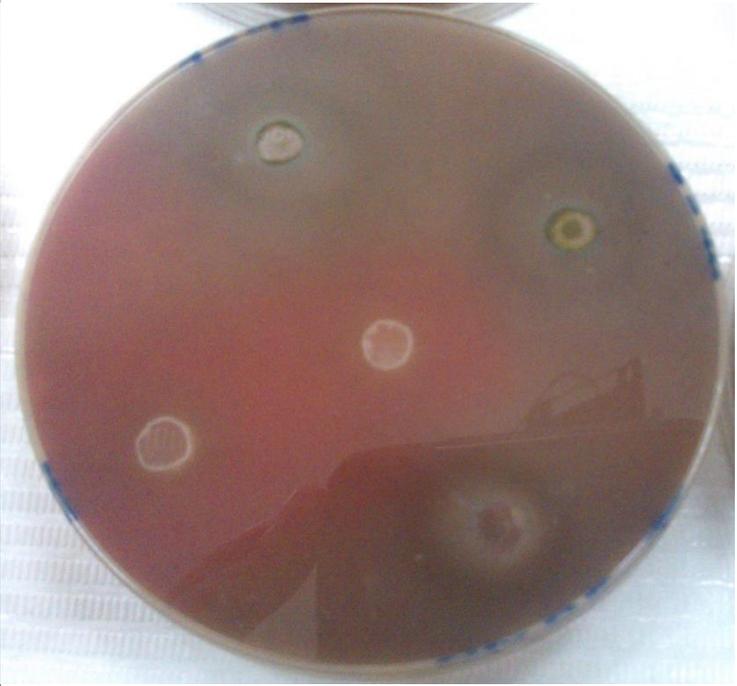
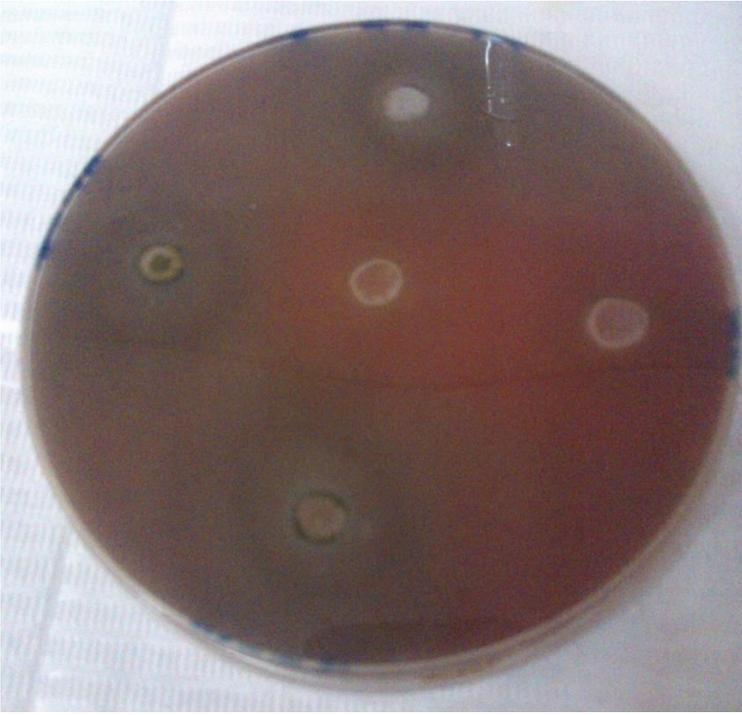
MUESTRAS COLOCADAS EN UNA LATA
CON TAPA HERMETICA PARA LA
INCUBACION



MEDIDA DE HALOS

MATERIALES PARA
LECTURA DE HALOS DE
INHIBICION





MEDIDA DE HALOS



