

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



**EFFECTO ANTIBACTERIANO DE UN GEL A BASE DE ACEITE
ESENCIAL DE *Eucalyptus globulus* Labill FRENTE A
Porphyromonas gingivalis, ESTUDIO IN VITRO, TACNA 2019.**

TESIS

PRESENTADO POR:

Bach. Araujo Hanco, Jhener Alexander

ASESOR:

Mag. C. D. Esp. Marco A. Sánchez Tito

Para Optar por el Título Profesional de:

Cirujano Dentista

TACNA – PERÚ

2020

DEDICATORIA

A mis padres por su infinito apoyo y complemento para lograr cada una de mis metas.

A mi familia que me apoyo en los momentos en los que más lo necesite.

AGRADECIMIENTOS

A dios por su protección y dirección por el camino correcto para poder superar cada meta propuesta por mí mismo.

A mis padres por su apoyo incondicional en cada una de mis metas.

A mi familia por su apoyo en cada uno de los pasos que me tocó dar.

RESUMEN

Objetivo: Demostrar el efecto antibacteriano de un gel a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill (eucalipto) frente a la *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. Material y método: El diseño fue de tipo experimental, se recolectaron hojas de *Eucalyptus globulus* Labill, de la familia Myrtaceae, clase Magnoliopsida, procedente de la Cordillera del Barroso en la Provincia de Tarata-Tacna, el cual crece naturalmente a 5 742 msnm, conservado en papel kraft para garantizar la calidad del producto, la obtención del aceite se hizo por el método de destilación por arrastre de vapor de agua. Se sometió el aceite a las pruebas de aspecto color y olor. La actividad antibacteriana fue evaluada por el método de difusión en disco. Posteriormente se probó la concentración mínima inhibitoria (MIC) para a partir de esta obtener su concentración mínima bactericida (CMB) frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 para elaborar un gel a base de ese aceite esencial de eucalipto utilizando dicha concentración máxima bactericida (CMB) y comprobar su efecto inhibitorio mediante el Método Kirby-Bauer en la cual se realizaron 20 repeticiones y se comprobó su efecto inhibitorio, para la comparación estadística se hizo por diferencia de medias. Resultados: Del estudio del *Eucalyptus globulus* Labill, por cromatografía gaseosa con detección de masas, se obtuvo una mayor proporción de 3-Heptadecene (36,13%), seguido de 1-Tridecene (14%) y Eucaliptol (9,72%), principalmente. Se pudo comprobar que la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 fue de 36,20 mg/mL y una concentración mínima bactericida (CMB) de 39,11 mg/mL presentando halos de inhibición de 15,67mm. en promedio, a partir de esta concentración se elaboró un gel a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 formando halos de 25,29 mm en promedio. Conclusiones: El gel a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill frente a la *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 es efectivo.

Palabras clave: *Porphyromonas gingivalis* (31792), *Eucalyptus globulus* Labill (5148), Aceite de *Eucalyptus globulus* Labill (57785), antibacterianos (911)

SUMMARY

Objective: To demonstrate the antibacterial effect of a gel based on essential oil of *Eucalyptus globulus* Labill (eucalyptus) against *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. Material and method: The design was experimental, *Eucalyptus globulus* Labill leaves were collected from the Myrtaceae family, Magnoliopsida class, from the Cordillera del Barroso in the Province of Tarata-Tacna, which grows naturally at 5,742 meters above sea level, preserved in kraft paper to guarantee the quality of the product, the oil was obtained by the method of distillation by steam stripping. The oil was subjected to tests for appearance, color and odor. The antibacterial activity was evaluated by the disk diffusion method. Subsequently, the minimum inhibitory concentration (MIC) was tested to obtain its minimum bactericidal concentration (CMB) against *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 to produce a gel based on that essential oil of eucalyptus using said maximum bactericidal concentration (CMB) and check its inhibitory effect by means of the Kirby-Bauer Method in which 20 repetitions were carried out and its inhibitory effect was verified, for statistical comparison it was done by mean difference. Results: From the study of *Eucalyptus globulus* Labill, by gas chromatography with mass detection, a higher proportion of 3-Heptadecene (36.13%) was obtained, followed by 1-Tridecene (14%) and Eucalyptol (9.72%), mainly. It was possible to verify that the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of the essential oil of *Eucalyptus globulus* Labill against *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 was 36.20 mg / mL and a minimum bactericidal concentration (CMB) of 39.11 mg / mL, showing inhibition halos of 15.67mm. On average, from this concentration, a gel based on essential oil of *Eucalyptus globulus* Labill against *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 was made, forming halos of 25.29 mm on average. Conclusions: The gel based on *Eucalyptus globulus* Labill essential oil against *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 is effective.

Keywords: *Porphyromonas gingivalis*, *Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus oil*, *Anti-Bacterial Agents*

ÍNDICE

RESUMEN.....	4
ABSTRACT.....	5
ÍNDICE.....	6
INTRODUCCIÓN.....	11
CAPÍTULO I.....	12
1 EL PROBLEMA.....	12
1.1 FUNDAMENTACIÓN DE PROBLEMA.....	12
1.2 FORMULACIÓN DE PROBLEMA.....	13
1.3 OBJETIVO DE LA INVESTIGACIÓN.....	13
1.3.1 OBJETIVO GENERAL.....	13
1.3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO.....	13
1.4 JUSTIFICACIÓN.....	15
CAPÍTULO II.....	16
2 REVISION BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN.....	16
2.1.1 ANTECEDENTES INTERNACIONALES:.....	16
2.1.2 ANTECEDENTES NACIONALES:.....	19
2.2 MARCO TEÓRICO.....	23
2.2.1 ENFERMEDAD PERIODONTAL.....	23
2.2.1.1 Definición.....	23
2.2.1.2 Epidemiología.....	23
2.2.1.3 Biofilm Dental.....	23

2.2.1.4	Estructura Del Biofilm.....	24
2.2.2	<i>Porphyromonas Gingivalis</i>	24
2.2.2.1	Descripción	24
2.2.2.2	Fisiopatología.....	25
2.2.3	FITOTERAPIA	25
2.2.4	<i>Eucalyptus globulus Labill</i>	26
2.2.5	Hábitat	26
2.2.5.1	Taxonomía	27
2.2.5.2	Composición Química Del Eucalipto	27
2.2.5.3	Propiedades	27
2.2.5.4	Uso medicinal:	28
2.2.5.5	Contraindicaciones:	28
2.2.6	ACEITE ESENCIAL DE <i>Eucalyptus globulus Labill</i>	28
2.2.7	GEL PROPIAMENTE DICHO.....	28
2.2.8	PRUEBA DE KIRBY BAUER.....	29
CAPÍTULO III.....		31
3	HIPÓTESIS Y VARIABLES	31
3.1	HIPÓTESIS	31
3.2	VARIABLES	31
3.2.1	VARIABLE INDEPENDIENTE	31
3.2.2	VARIABLE DEPENDIENTE.....	31
3.3	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	32
CAPÍTULO IV.....		33

4	METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	33
4.1	TIPO DE INVESTIGACIÓN	33
4.2	NIVEL DE INVESTIGACIÓN	33
4.3	DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	33
4.4	ÁMBITO DE ESTUDIO	34
4.5	POBLACIÓN DE MUESTRA	34
4.6	MATERIALES DE LABORATORIO A UTILIZAR.....	35
4.7	INSTRUMENTO.....	37
CAPÍTULO V		38
5	PROCEDIMIENTO DE RECOJO DE DATOS	38
5.1	RECOLECCIÓN, UBICACIÓN Y MANEJO DE VARIABLES	38
5.1.1	PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN:.....	38
5.1.2	IDENTIFICACION DE <i>Eucalyptus globulus Labill</i> (EUCALIPTO):.....	39
5.1.3	EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE EUCALIPTO:	39
5.1.4	DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Eucalyptus globulus Labill</i> (EUCALIPTO).....	41
5.1.5	EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD DEL ACEITE ESENCIAL DE ACEITE ESENCIAL DE <i>Eucalyptus globulus Labill</i> (EUCALIPTO).....	42
5.1.6	PROCESAMIENTO DE <i>Porphyromonas gingivalis</i>	42
5.1.7	Elaboración del gel a base de aceite esencial de <i>Eucalyptus globulus Labill</i> (eucalipto).....	43
5.2	DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	44

5.2.1	VALORACIÓN DE LA ACTIVIDAD DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Eucalyptus globulus</i> Labill	44
5.2.2	ACTIVACIÓN DE <i>Porphyromonas gingivalis</i>	44
5.2.3	PREPARACIÓN DEL INOCULO	45
5.2.4	PREPARACIÓN DE LOS DISCOS	45
5.2.5	PREPARACIÓN DEL MEDIO PARA LA PRUEBA DE SENSIBILIDAD	46
5.2.6	INOCULACIÓN	46
5.2.7	INCUBACIÓN	47
5.2.8	LECTURA.....	47
5.2.9	DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI) (VALDEZATE ET AL., 2001)	48
5.2.9.1	PREPARACIÓN DE LAS DILUCIONES DEL ACEITE ESENCIAL.....	48
5.2.9.2	PREPARACION DE SOLUCION MADRE.....	50
5.2.10	PREPARACIÓN DEL CMI (CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA) PARA <i>Porphyromonas gingivalis</i>	54
5.2.10.1.1	Determinación de la concentración mínima bactericida ..	57
5.2.10.1.2	Elaboración del gel a base de aceite esencial de <i>Eucalyptus globulus</i> Labill (eucalipto)	57
5.2.10.1.3	Procesamiento y análisis estadístico	58
CAPÍTULO VI.....		59
6	Resultados	59
DISCUSIÓN		78
CONCLUSIONES		83
RECOMENDACIONES		84

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	85
ANEXOS	89

INTRODUCCIÓN

El medio bucal es un ambiente ampliamente colonizado por bacterias (aproximadamente hasta 600 especies de bacterias), (1) las bacterias colonizan todas las zonas, que en condiciones normales son propias de dicho hábitat y conviven en equilibrio; Cuando este equilibrio se ve alterado, es cuando se producen las enfermedades.

En la actualidad, en Perú, según el MINSA, existe una gran cantidad de enfermedades bucales, entre las cuales las de mayor incidencia son las caries dentales y las enfermedades gingivoperiodontales. (1)

Las enfermedades gingivoperiodontales son procesos infecciosos en los que influye con mayor incidencia la formación del biofilm o placa dental, considerado como un problema mundial. La prevención y tratamiento de las enfermedades gingivoperiodontales se enfoca en su control y reducción de la placa dentaria con el uso de colutorios, dentífricos, etc. (2–5)

El eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill) es conocido por su propiedad terapéutica e inhibitoria de bacterias orales. (7)

La *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 es uno de los tipos de bacterias que pueden ser halladas en todas las etapas de una periodontitis. (8)

Por tal se propone la evaluación del efecto de un gel a base de aceite esencial de eucalipto por su principio activo natural, se utilizara para que tenga efecto sobre agentes patógenos de la enfermedad periodontal y observar su capacidad antibacteriana y los efectos que desencadena.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

1.1 FUNDAMENTACIÓN DE PROBLEMA

Las enfermedades gingivoperiodontales, así como la caries dental son enfermedades de origen bucal, estas enfermedades están presentes desde la existencia del hombre, con el paso de los años han sido tratadas de diversas maneras siendo utilizados diversos métodos para combatirlas.

Con los nuevos avances en investigación se logró estudiar con más exactitud los principios activos de diversas plantas medicinales y clasificarlas.

En la actualidad se ha recuperado el interés a las plantas medicinales su uso y propiedades, se ha presentado una mayor atención por parte de los científicos, los cuales descubren nuevos compuestos con el pasar del tiempo.

Por lo tanto, entre la gran variedad de microorganismos existentes en la enfermedad periodontal; La *Porphyromonas gingivalis* es uno de los más representativos; este es un bacilo Gram negativo predominante en las enfermedades gingivoperiodontales, su virulencia la hace sumamente agresiva.

Hoy en día existen diversos métodos para la inhibición de las bacterias, como el uso de colutorios, pastas dentales y técnicas de cepillado, para poder lograr eliminar o reducir la probabilidad de proliferación de estas bacterias.

En Perú existe mucha variedad de plantas medicinales y sus aceites esenciales se ha observado su gran capacidad antibacteriana, antimicótica, antiparasitaria, antiviral e antiséptica. (9–12)

Por lo tanto, en la presente investigación queremos determinar el efecto antibacteriano de un gel a base de aceite esencial de eucalipto frente a la *Porphyromonas gingivalis*, además de observar en sus porcentajes de pureza cual es el más efectivo y más eficaz frente a los demás.

1.2 FORMULACIÓN DE PROBLEMA

¿Cuál será el efecto antibacteriano de un gel a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill (Eucalipto) frente a *Porphyromonas gingivalis*?

1.3 OBJETIVO DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Demostrar el efecto antibacteriano de un gel a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill (eucalipto) frente a *Porphyromonas gingivalis*.

1.3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- a) Obtener y caracterizar el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill a través cromatografía y espectrometría de masa.
- b) Evaluar la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill, por técnica de antibiograma de Kirby Bauer
- c) Determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC) del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill frente a *Porphyromonas gingivalis*.

- d) Determinar la concentración mínima bactericida (CMB) del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill frente a *Porphyromonas gingivalis* y elaborar un gel a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill en concentración mínima bactericida.
- e) Comparar el efecto antibacteriano de un aceite esencial *Eucalyptus globulus* Labill versus un gel a base aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill en cepas de *Porphyromonas gingivalis*.

1.4 JUSTIFICACIÓN

La razón por la cual se decidió realizar esta investigación es porque se observó que diversos productos utilizados en higiene bucal (colutorios, pastas dentales, geles bucales) son de origen químico, muchas veces presentan reacciones adversas a corto o largo plazo, lo cual no beneficia mucho a la salud bucal de nosotros como a la de los pacientes. Además, que con esta investigación se quiere hacer un aporte a la comunidad científico-odontológica sobre la existencia, uso y propiedades antibacteriales de los aceites esenciales.

En la presente investigación nos enfocamos en un gel a base de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill), esta podría ser una alternativa más natural para la prevención de caries y enfermedades periodontales actuando en la prevención sobre las bacterias más perjudiciales y representativas en la enfermedad periodontal, como lo es la *Porphyromonas gingivalis*, o en caso ya estén instaurada, podría servir como una terapia coadyuvante.

De esta forma, la elaboración de fármacos naturales tendría un aporte a la sociedad científica, gracias a los beneficios brindados por la medicina natural, generando la opción y el uso en mayor variedad de productos de origen natural, además de su aporte académico ya que de esta manera ayudara en futuros proyectos, brindando antecedentes utilizados en la población de Tacna y de resultados fidedignos, relacionándolo con investigaciones realizadas en la **Facultad de Odontología de la Universidad Privada de Tacna.**

CAPÍTULO II

REVISION BIBLIOGRÁFICA

1.5 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

1.5.1 ANTECEDENTES INTERNACIONALES:

Damjanovic V.B. y Col. (7) Antimicrobial effect of essential oil isolated from *Eucalyptus globulus* Labill. from Montenegro (2011) (Podgorica, Montenegro)

En el presente estudio se observó la actividad antimicrobiana del aceite esencial del *Eucalyptus globulus* Labill. Además de su composición química detallada.

Se evaluó la cromatografía y espectrometría de masas y también la actividad antimicrobiana en 17 microorganismos. Se identificaron un total de 11 constituyentes, 1,8 cineol (85,8%), α -pineno (7,2%), y β -mirceno (1,5%) siendo los componentes principales.

Las pruebas revelan que el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill tiene una fuerte actividad antimicrobiana, especialmente contra *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Escherichia Coli* ATCC 25922, *Candida albicans* ATCC 10231, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Acinetobacter baumannii* ATCC 43498 y *Klebsiella pneumonia* ATCC BAA - 1705. Además, se determinó que el aceite de *Eucalyptus globulus* Labill, obtenido en Montenegro tiene un efecto antibacteriano positivo.

Pranay J. y Cols. (13). Actividad antimicrobiana y análisis fitoquímico de extracto metanólico de corteza y hoja de *Eucalyptus Tereticornis* (2010) (Kuruskshetra, India):

En el presente estudio se evaluó, la extracción metanólico de *Eucalyptus Tereticornis*.

Se comenzó analizando la actividad antibacteriana frente a patógenos humanos como bacterias Gram positivas, Gram negativas y levaduras.

Resultados; se comprobó que el extracto metanólico de *Eucalyptus Tereticornis* era ligeramente más efectivo el extraído de la corteza que el de la hoja, formando el extracto de corteza halos de 17 mm. a 27 mm. Y el extracto de hoja formando halos de 18 mm. a 24 mm., existiendo una diferencia mínima en la inhibición de sus halos.

Conclusión; Se logró comprobar un efecto inhibitorio positivo tanto en la hoja como en la corteza siendo el extracto de corteza de *Eucalyptus Tereticornis* más efectivo que el de hoja.

Siqueira M. V. y Cols. (8) Actividad antimicrobiana del aceite de *Eucalyptus Globulus*, xilitol y papaína: estudio piloto (2015), (Sao Paulo)

El presente estudio evalúa la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Eucalyptus globulus Labill*, xilitol y papaína, ante microorganismos como: *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia Coli* y *Candida albicans*.

Se advirtió que el aceite de *Eucalyptus globulus Labill* presentó inhibición superior a la de la clorhexidina cuando fue aplicado al *Staphylococcus aureus*, e inhibición idéntica cuando fue aplicado a los microorganismos como *Escherichia Coli*, *Proteus vulgaris* y *Candida albicans*.

En conclusión, podemos decir que el aceite esencial de *Eucalyptus globulus Labill* tiene actividad antibacteriana frente a diferentes microorganismos

comparable y en algunos casos superior a la clorhexidina, además de parecer una alternativa viable como agente germicida.

Cervantes M. M. y Cols. (14) Evaluación microbiológica del aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus urograndis*) en *Porphyromonas gingivalis* " (2018) (Guayaquil-Ecuador)

Descripción; en el presente estudio se evaluó la efectividad del aceite de eucalipto (*Eucallyptus urograndis*) frente a *Porphyromonas gingivalis* a diferentes concentraciones (4%, 5% y 15%)

Resultados; se realizaron 3 pruebas por cada concentración, en la cual al 15% se observaron halos de inhibición entre 6 mm. y 14 mm. En la concentración de 4% y 5% se observó halos entre 6 mm. a 8mm.

Conclusión; por lo cual podemos decir que el efecto inhibitorio es nulo en las concentraciones de 4% y 5%, y un efecto inhibitorio al límite en la concentración al 15%

1.5.2 ANTECEDENTES NACIONALES:

Aylas C. R. (9) Evaluación de la efectividad antimicrobiana de un colutorio a base de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* Labill (eucalipto) y *Minthostachys sp.* (Muña), frente a *Klebsiella Pneumoniae* ATCC 10031, *Staphylococcus aureus* ATCC 29737 y *Candida albicans* ATCC 10231 (2012) (Lima-Perú)

El presente trabajo se tuvo como objetivo principal evaluar la efectividad antimicrobiana de un colutorio a base de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* Labill (Eucalipto) y *Minthostachys sp.* (Muña) frente a *Klebsiella Pneumoniae* ATCC 10031, *Staphylococcus aureus* ATCC 29737 y *Candida albicans* ATCC 10231. El estudio se desarrolló de tipo cuasi experimental, prospectivo y transversal. Se utilizó una ficha de registro para los datos obtenidos. El método empleado para la evaluación de la efectividad antibacteriana fue el de Reto Microbiano Modificado. Los resultados fueron: para *Klebsiella Pneumoniae*, a un nivel de significancia de 0,05 y un p-valor=0,4412, el tratamiento con el colutorio formulado tiene el mismo efecto que colutorio comercial; para *Staphylococcus aureus*, a un nivel de significancia de 0,05 y un p-valor=0,6039, el tratamiento con el colutorio formulado no es más efectivo que el colutorio comercial, ambos presentan la misma efectividad; para *Candida albicans*, a un nivel de significancia de 0,05 y un p-valor=0,0000325, se acepta que el tratamiento con el colutorio formulado presenta mayor efectividad que el colutorio comercial.

Argote V. F. y Cols. (10) Evaluación de la capacidad inhibitoria de aceites esenciales en *Staphylococcus Aureus* ATCC 29737 y *Escherichia Coli* ATCC 25922 (2017) (Lima-Perú)

En el presente estudio se observa que el interés en los aceites esenciales ha aumentado en sus propiedades bactericidas, fungicidas y antioxidantes. El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad antibacteriana de aceites esenciales de eucalipto, limón y mandarina, frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia Coli*.

La actividad antibacteriana la determinó la concentración mínima inhibitoria CMI y bactericida CMB, mediante el método de microdilución, con una emulsión estable cuyo diámetro promedio de gota estuvo entre 40 y 63 micras. La composición se determinó por cromatografía de gases acoplado a masas, índice de refracción y acidez.

Como resultado, se encontró para los aceites, valores de densidad entre $0,858 \pm 0,002$ y $0,920 \pm 0,003$ g/cm³, índice de refracción de $1,469 \pm 0,01$ y $1,4595 \pm 0,0025$, índice de acidez entre $5,32 \pm 0,02$ y $8,08 \pm 0,074$; la composición de limón y mandarina presentaron compuestos comunes como limoneno, terpineno, octanal y mirceno; en eucalipto se destacaron eucaliptol (1,8 cineol) y pineno.

En conclusión, los mejores resultados de inhibición fueron para eucalipto y mandarina frente a la bacteria Gram positiva con una CMI y CMB de 6,8 µl/mL y para la Gram negativa el aceite esencial de cascara de mandarina y eucalipto con una CMI y CMB de 13,2 µl/mL.

Alzamora L. y Cols. (11) Actividad antimicrobiana in vitro de los aceites esenciales extraídos de algunas plantas aromáticas (2010) (Lima-Perú)

Evalúo la efectividad de cinco especies de la flora medicinal empleadas en medicina tradicional en el Perú. En la que el *Eucalyptus globulus* Labill (Eucalipto) presento halos de inhibición de 12mm. A 17mm. Entre los microorganismos puestos a prueba.

Se logró evaluar el efecto inhibitorio de otras especies, pero el presentado por el *Eucalyptus globulus* Labill fue el de mejores resultados.

Conclusión, Se demostró la efectividad de *Eucalyptus globulus* Labill como un buen bactericida de efectividad comprobada.

Moreno J. y Cols. (12) Modelación y optimización del proceso de extracción de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) (2010) (Trujillo-Perú)

Descripción, Se pudo observar la forma más óptima de extracción de aceite esencial de eucalipto en el cual podemos comprobar que las hojas de eucalipto tienen que alcanzar un punto de humedad para producir la cantidad necesaria de aceite esencial.

Se llegó a la conclusión que la forma más óptima de extracción de aceite esencial es utilizando únicamente las hojas sin tallos y entre 98 y 126 min para lograr la cantidad necesaria.

Lagos R. E. (15) Determinación de la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial *Thymus vulgaris* L. “Tomillo” frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 causante de gingivitis (2012) (Tacna – Perú)

Descripción, mediante el presente estudio se evaluó la efectividad de aceite esencial de Tomillo frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277.

Resultados, Se observó que el MIC fue 0,31 mg/mL y CMB fue 0,37 mg/mL.

Además, se pudo observar que a concentraciones de 2,76 mg/mL el aceite era sumamente sensible y a concentraciones de 3,22 mg/mL la sensibilidad no era registrable ya que superaba la placa Petri en la cual se realizaba superaba su diámetro.

Conclusión, el aceite esencial de Tomillo presenta una actividad antibacteriana positiva.

1.6 MARCO TEÓRICO

1.6.1 ENFERMEDAD PERIODONTAL

1.6.1.1 Definición

Se define como una enfermedad de etiología multifactorial, que afecta las estructuras del periodonto en diferentes grados según su gravedad, según Botero J. (16)

La enfermedad periodontal es una infección causada por bacterias periodontopatógenas, que colonizan superficies dentarias y margen gingival; debido a esto, causa inflamación tisular en los márgenes gingivales, destrucción de tejidos duros y blandos que brindan soporte dentario, como los son: hueso alveolar, ligamento periodontal y encía. (16)

La enfermedad periodontal en su forma más leve es presentada como gingivitis, que se caracteriza por la inflamación limitada de encía debido al acumulo de placa bacteriana, es reversible siempre y cuando se tenga un control cuidadoso de la misma.

Mientras que en su forma más compleja se manifiesta como periodontitis, que es un proceso destructivo y progresivo que afecta al periodonto en general.

1.6.1.2 Epidemiología

Según la OMS, las afecciones al periodonto son una de las enfermedades del medio bucal más comunes en el ser humano, ocupa el segundo lugar dentro de las enfermedades bucales más padecidas por el hombre, afecta entre el 60% y 90% de la población mundial, dentro de las cuales el 50 % se debe a la gingivitis. (16)

1.6.1.3 Biofilm Dental

Socransky y cols. lo definen como comunidades de microorganismos unidos a una superficie sólida embebidos en un glicocáliz.

El biofilm permite proteger a la especie colonizadora frente a mecanismos competitivos de factores ambientales, así como los mecanismos de defensa del huésped. (17)

1.6.1.4 Estructura del Biofilm

Carranza menciona que dicha comunidad se mantiene heterogéneas, de estructura compleja y está formada por un 15% a 25% de células bacterianas y un 75% a 85% de agua y matriz extracelular; generalmente polisacáridos segregados por las bacterias.

1.6.2 PORPHYROMONA GINGIVALIS

1.6.2.1 Descripción

Es un bacilo Gram negativo que no presenta movilidad, de crecimiento anaerobio estricto, se agrupa en colonias de color verde oscuro y en algunas ocasiones de color pardo.

Las células de *Porphyromonas gingivalis* tienen una dimensión de 0,5 u 0,8 um por 1,0 – 3,5 um de largo. Esta especie se encuentra entre las bacterias de mayor importancia en las infecciones de conductos radiculares dentales.

En etapas tempranas es detectada en pacientes con gingivitis y en etapas tardías en pacientes con periodontitis, su origen es multifactorial por lo cual no se tiene claro si es de origen endógeno o exógeno. (15)

1.6.2.2 Fisiopatología

Porphyromonas gingivalis es considerado uno de los colonizadores secundarios, comienza por el surco gingival, para poder llegar al contagio o transmisión de individuos infectados por medio de la saliva principalmente.

Tiene una gran capacidad de adherirse, principalmente por sus fimbrias peritricas tipo II, así como por sus vesículas de membrana, estas le permiten dar el primer paso en la colonización del surco, para poder adaptarse e invadir las células epiteliales en un periodo aproximado de 20 minutos, se puede replicar dentro de ellas y diseminarse a las células vecinas. Esta característica de invadir la célula, le da la capacidad de evadir las defensas del huésped.

A todo esto, se suma un factor huésped, que, ante la presencia de esta bacteria, activa una diversidad de respuestas que pueden incrementar el proceso inflamatorio presentes en el surco, haciendo crónico el proceso de destrucción del periodonto. (15)

1.6.3 FITOTERAPIA

En el siglo XX El francés Henri Leclero dio el término de fitoterapia, proviene de phyto (planta) y terapia (tratamiento). La fitoterapia es el tratamiento de enfermedades con plantas. (18)

Las plantas medicinales se utilizan desde nuestros antepasados. Ya que era lo único que era disponible por la humanidad, esto hace que se estudie más a fondo las propiedades de las plantas medicinales (19). Esto nos permitió identificar y aislar los compuestos químicos que se encuentren en estas plantas, identificando su principio activo y ampliando la experiencia de estas al ser utilizadas en productos. (20)

En la actualidad la fitoterapia es la utilización de productos naturales con un fin terapéutico, para prevenir, aliviar o curar estados patológicos o mantener la salud del paciente. Hoy existe mucha base

científica que nos muestra la eficacia de los productos fitoterapéuticos. Demostrando así que la fitoterapia ha demostrado su utilidad con pruebas fehacientes. (18)

Las plantas medicinales podrían ser suficientes para aliviar una enfermedad o servir como apoyo con otros medicamentos, pueden aliviar síntomas ayudando en enfermedades leves o moderadas, aunque lo ideal es el uso de estas en una atención primaria.

1.6.4 *Eucalyptus globulus* Labill

Es una especie arbórea familia de las Myrtaceae natural de Australia. Es uno de los árboles más conocidos de la flora australiana, ya que su rápido crecimiento se ha extendido por todo el mundo, para su aprovechamiento industrial y sus variados usos medicinales.

1.6.5 Hábitat

Prefiere los suelos ligeramente ácidos, zonas frescas y húmedas que se pueden encontrar en diversos ambientes, no resiste el frío intenso y es un poco sensible a las sequías prolongadas. Se ha cultivado intensamente para eliminar la humedad en zonas pantanosas, florece en septiembre - octubre.

Proveniente de Australia, donde se podrían encontrar más de 300 especies del género *Eucalyptus*. Además por la rapidez de crecimiento, se puede encontrar cultivado en muchas regiones del mundo para la producción de madera, fabricación de pulpa de papel y obtención de aceite esencial. Ha sido especialmente utilizado para sanear zonas pantanosas al eliminar la humedad de las mismas con la consiguiente erradicación de plagas de insectos, principalmente mosquitos, y de las enfermedades que transmiten.

Por otra parte, tiene una capacidad de absorción del agua innata, que convierte a los eucaliptos en especies muy agresivas para el medio

ambiente al transformar los ecosistemas, por desecación de la tierra donde se plantan.

1.6.5.1 Taxonomía

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Rosidae
Orden	Myrtales
Familia	Myrtaceae
Subfamilia	Myrtoideae
Tribu	Eucalypteae
Género	<i>Eucalyptus</i>
Especie	<i>Eucalyptus globulus</i> Labill

1.6.5.2 Composición Química Del Eucalipto

Está compuesto por Cineol o más conocido como Eucaliptol, también existe la presencia de cetonas, terpinol, alcoholes alifáticos y aldehídos. (21)

1.6.5.3 Propiedades

Se ha reconocido al eucalipto por sus propiedades expectorantes y antisépticas, además de sus propiedades hipoglucemiantes por lo que ha sido objeto a numerosas investigaciones. (21)

1.6.5.4 Uso medicinal:

La utilización de elementos naturales como lo es el aceite esencial de eucalipto ha sido muy difundida y estudiada en diversas áreas de la salud. (3)

Usos:

- El aceite de Eucalipto es muy utilizado en el área odontológica por su propiedad solvente sobre la Gutapercha.
- La Eucaliptona es un compuesto del aceite de Eucalipto que presenta propiedades anticariógenas.
- El Eucalipto posee una actividad antigripal comprobada y se usa para aliviar sus síntomas.
- El Eucalipto además puede presentar actividad antiséptica y también expectorante. (4)

1.6.5.5 Contraindicaciones:

- No se da a pacientes embarazadas, lactantes o menores de edad.
- No se utiliza si existe hipersensibilidad a los aceites esenciales de eucalipto.
- Se contraíndica en las inflamaciones del tracto gastrointestinal, de vías biliares y hepatopatías. (21)

1.6.6 ACEITE ESENCIAL DE Eucalyptus globulus Labill

Se trata de un líquido miscible con alcohol, su olor varía entre el de la menta y el de la trementina. Se encuentra en muchos productos, ungüentos, inhaladores para aliviar la congestión nasal, medicamentos para el dolor en encías, boca y garganta y enjuagues bucales.

1.6.7 GEL PROPIAMENTE DICHO

Un gel es un sistema coloidal donde la fase continua es sólida y la dispersa es líquida. Los geles presentan una densidad similar a la de los líquidos, sin embargo, su estructura se asemeja más a la de un sólido. El ejemplo más común de gel es la gelatina comestible. (22)

Ciertos geles presentan la capacidad de pasar de un estado coloidal a otro, es decir, permanecen fluidos cuando son agitados y se solidifican cuando permanecen inmóviles, esta característica se denomina tixotropía. El proceso por el cual se forma un gel se denomina gelación. (22)

El proceso de elaboración de gel consiste en realizar una mezcla de los componentes en un envase, en el procedimiento se menciona las cantidades de las sustancias y la secuencias en que debe agregarse cada componente al mezclarlos. Es importante elegir el instrumental necesario para la agitación, considerando las propiedades de las materias primas y el producto final. (23)

1.6.8 PRUEBA DE KIRBY BAUER

El método Kirby-Bauer (método de difusión en agar) es empleado para determinar la sensibilidad de un agente microbiano frente a un antibiótico. Este método comprende lo que se denomina un antibiograma o prueba de susceptibilidad bacteriana frente a drogas específicas.

Sobre la superficie de una placa de agar Müller-Hinton (medio de cultivo rico, diseñado especialmente para hacer ensayos de sensibilidad) se inocula una cantidad estandarizada de bacterias, sembrándolas de forma uniforme para obtener después de la inoculación un "césped" bacteriano.

A continuación, se colocan discos de papel de filtro impregnados con concentraciones conocidas de los diferentes antibióticos. La elección de los antibióticos a probar depende del germen y del foco de infección. El antibiótico difundirá desde el papel filtro al agar de forma radial. Se incuba la placa durante 18-24 horas a 37 °C (respetar este parámetro, porque temperaturas menores pueden disminuir la velocidad del crecimiento del germen y la difusión del antibiótico, dando halos irregulares difíciles de medir), y luego se

miden los halos de inhibición de desarrollo, interpretándose de acuerdo a tablas confeccionadas previamente. Los resultados se expresan como: Sensible (S), Intermedio o Moderadamente sensible (I) y Resistente (R).

CAPÍTULO III

HIPÓTESIS Y VARIABLES

1.7 HIPÓTESIS

Hipótesis alterna:

El Gel a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill (eucalipto) tiene un efecto antibacteriano sobre el crecimiento de *Porphyromonas gingivalis*.

Hipótesis nula:

El Gel a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill (eucalipto) no tiene efecto antibacteriano sobre el crecimiento de *Porphyromonas gingivalis*.

1.8 VARIABLES

1.8.1 VARIABLE INDEPENDIENTE

Gel a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill (eucalipto)

1.8.2 VARIABLE DEPENDIENTE

Bacteria periodontopatógenas *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277

1.9 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLES INDEPENDIENTES			
	INDICADOR	CATEGORÍA	ESCALA
Actividad antibacteriana de un gel a base de aceite esencial de <i>Eucalyptus globulus</i> Labill (<i>Eucalipto</i>)	Diámetro del halo generado por el efecto antibacteriano	Medidas en mm	Cuantitativa
			Razón
		Nula	
		(-)	
		Sensible limite	
	(+)	Cualitativa	
	Muy sensible		
	(++)	Categórica	
	(Según pautas de Duraffourd)	Sumamente sensible	
		(+++)	
VARIABLE DEPENDIENTE			
	INDICADOR	CATEGORÍA	ESCALA
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Crecimiento bacteriano de la cepa.	Turbidez (MIC)	<i>Cepa ATCC 33277</i>
		UFC (CMB)	<i>Porphyromonas gingivalis</i>

CAPÍTULO IV

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

1.10 TIPO DE INVESTIGACIÓN

- **La investigación es de tipo experimental:** Esto es debido a la manipulación de variables evaluando el comportamiento de la *Porphyromonas gingivalis*, en diferentes concentraciones utilizadas respectivamente del gel a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill.
- **De tipo prospectivo,** porque los datos se dan a conocer a partir de las observaciones y ocurrencia de los hechos.
- **Transversal:** porque se hizo una sola observación por cada muestra.
- **Analítica:** porque se evaluaron los datos obtenidos durante las pruebas realizadas en el laboratorio.

1.11 NIVEL DE INVESTIGACIÓN

El nivel de investigación es el explicativo, porque se buscó entender el comportamiento de la acción inhibitoria de las bacterias.

1.12 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

El diseño de la investigación por el método experimental

1.13 ÁMBITO DE ESTUDIO

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

1.14 POBLACIÓN MUESTRA

Población:

Placas Petri inoculadas de *Porphyromonas gingivalis* ATCC® 33277™ (American Type Culture Collection).

Muestra:

- Unidad de análisis:

Placas Petri inoculadas de *Porphyromonas gingivalis* ATCC® 33277™ (American Type Culture Collection), en las cuales se aplicó diversas concentraciones de aceite esencial *Eucalyptus globulus* Labill y gel a base de aceite esencial *Eucalyptus globulus* Labill.

- Unidades de muestreo microbiano:

Colonia de cepas de *Porphyromonas gingivalis* ATCC® 33277™ (American Type Culture Collection).

- Unidades de muestreo biológico:

Aceite esencial *Eucalyptus globulus* Labill en diversas concentraciones y gel a base de aceite esencial *Eucalyptus globulus* Labill (CMB).

1.15 MATERIALES DE LABORATORIO A UTILIZAR

- 01 Autoclave
- 01 Estufa
- 01 Incubadora
- 01 Balanza analítica
- 01 Equipo de destilación
- Tubos de ensayo
- Placas Petri
- Matraces
- Pipetas
- Vasos de precipitación
- Frascos de vidrio
- Bacteria *Porphyromonas Gingivalis*
- Agar Müeller Hinton 250 gr.
- Caldo infusión Cerebro Corazón (BHI)
- Puntas para micropipeta
- Discos de sensibilidad
- Cámara fotográfica semi- profesional

Equipos

- Autoclaves
- Balanza analítica
- Estufa de incubación a 37 °C.
- Mechero Bunsen
- Refrigeradora
- Micro pipetas

Materiales de vidrio

- Balones de vidrio de 100, 250, 500 mL
- Embudos de vidrio

- Fiolas de 100 mL
- Matraces de 500 mL
- Pipetas de 1, 5 y 10 mL
- Placas Petri de 100 x 15 mm
- Probetas de 25 y 50 mL
- Tubos de ensayo 13 X 100 mm
- Bagueta
- Vasos de precipitación de 250 y 500 mL
- Pera de decantación.

Medios de cultivo

- Agar Müeller Hinton (Merck)
- Medio infusión cerebro corazón (BHI)
- Caldo Müeller Hinton (Merck)

Reactivos.

- Alcohol etílico de 70°
- Alcohol yodado
- Agua destilada
- Ron de quemar

Otros.

- Asa de Kholle
- Asa de Drigalski
- Gradillas
- Espátulas
- Trípode y malla de asbesto
- Pinzas
- Papel kraft
- Papel de filtro
- Mascarilla

- Guantes quirúrgicos
- Algodón pabilo
- Papel aluminio
- Marcadores
- Calculadora
- Vernier

1.16 INSTRUMENTO

- Bitácora de trabajo de campo, para establecer los resultados de la concentración mínima inhibitoria (MIC) y la concentración mínima bactericida (CMB), para ser utilizada en la elaboración del Gel a base de aceite esencial *Eucalyptus globulus* Labill.

CAPÍTULO V

PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS DE DATOS

1.17 RECOLECCIÓN, UBICACIÓN Y MANEJO DE VARIABLES

1.17.1 PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN:

Las hojas de *Eucalyptus globulus* Labill se obtuvieron por recomendación de uno de los asesores, en la provincia de Tarata por su mayor pureza, además de lograr un resultado más real y preciso.

La provincia de Tarata se encuentra al noreste de la región Tacna, encaramada en un tramo de la cordillera de los Andes denominado localmente "cordillera del Barroso", ésta cordillera tiene como mayor elevación al nevado Barroso que en el pico Antajave alcanza los 5742 msnm.

Se recolectaron alrededor de 2000 gramos de hojas de *Eucalyptus globulus* Labill retirando las ramas y solo manteniendo las hojas.

Se procedió a recolectar las hojas de eucalipto para almacenarlas en papel Kraft, en un cuarto oscuro y cerrado para evitar la humedad que puede originar el deterioro de las hojas de eucalipto.

1.17.2 IDENTIFICACIÓN DEL *Eucalyptus globulus* Labill

(EUCALIPTO):

Se solicita la taxonomía del Eucalipto recolectado a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Jorge Basadre Grohmann, se adjuntó dicha identificación en (ANEXO 1)

1.17.3 EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE EUCALIPTO:

La extracción de aceite esencial de las hojas de eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill) fueron recolectadas, agrupadas y seleccionadas, posteriormente se procedió a trozar en pequeños fragmentos las hojas de forma que se pueda obtener una mejor absorción de su esencia al encontrarse en partes menores.

La obtención del aceite esencial de eucalipto se realizó por un método de destilación por arrastre de vapor de agua, el sistema a utilizar es el de doble balón en el cual se utilizó 500 gramos de muestra de hojas trozadas de eucalipto en uno de los balones, agua destilada (1 litro) en el siguiente, al ser sometidas al calor el *Eucalyptus globulus* Labill pasa al segundo balón. En este segundo balón se reciben los vapores de agua, para lograr liberar el vapor mixto (aceite esencial – agua) que se dirige hacia el condensador, el aceite obtenido se deposita en un tubo estéril y cerrado, en esta parte del procedimiento es en la que podemos ver el estado difásico entre el agua y el aceite que como ya es conocido no se juntan debido a sus diferentes densidades.

De esta manera nos ayuda a separar el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill mediante el uso de pipetas Pasteur a un tubo de vidrio con tapa rosca cerrado herméticamente envuelto en papel aluminio, además se almacena a temperatura ambiente y en oscuridad hasta su utilización.

Logramos obtener 20 mL de aceite esencial de eucalipto extraído durante 3 días.

El aceite esencial fue sometido a las siguientes pruebas:

Aspecto: Líquido cristalino

Color: Amarillo

Olor: Ligeramente teáceo

1.17.4 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *Eucalyptus globulus* Labill (EUCALIPTO).

Probeta de 5 mL. vacía = 16,2959 g.

Probeta de 5 mL. con aceite = 17,4343 g.

Masa = 17,4343 – 16,2959 = 1,1384

Volumen = 1,3 mL.

D = densidad (g/mL)

M = masa (g)

V = volumen (mL)

M = 1,1384 g

V = 1,3 mL

D = $\frac{M}{V}$

V

D = $\frac{1,1384 \text{ g}}{1,3 \text{ mL}}$

1,3 mL

D = 1,1384 g -----1,3 mL

D = X-----1 mL

D = 0,8756923 g/ml

1g -----1 000 mg

0,876923 g/ml -----x

875,6923 mg/mL

875,6923mg/mL ----- 1 000 mcl

2,1892307 ----- 2,5 µl

1.17.5 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD DEL ACEITE ESENCIAL DE ACEITE ESENCIAL DE *Eucalyptus globulus* Labill (EUCALIPTO).

La actividad antibacteriana del aceite esencial se evaluó por el método de difusión en disco (Kirby Bauer).

1.17.6 PROCESAMIENTO DE *Porphyromonas gingivalis*

Las colonias de *Porphyromonas gingivalis*, cuando crecen en una superficie de agar sangre o Müeller Hinton (Merck), son inicialmente blanquecinas para luego colorearse crema. A los 4 a 8 días, estas colonias oscurecen tornándose de color rojo profundas, verdosas o negro, desde su borde hacia el centro, lo cual se correlaciona con la concentración de protoheme en la pared celular. Así de acuerdo a las características coloniales descritas para *Porphyromonas gingivalis*, y mediante observación bajo lupa estereoscópica (Stemi 2 000C, Zeiss), colonias negras, verdosas o pardas muy oscuras, redondas, convexas, brillantes y lisas, fueron sembradas con técnica de aislamiento en caldo Müeller Hinton (Merck).

Se activó la bacteria que fue adquirida de manera liofilizada de la empresa (GemLab), el procedimiento inicia a partir de la ruptura del sobre en el que se encuentran la *Porphyromonas gingivalis*, se rompe la ampollita de activación y se procede a sacudir por 5 min, las cepas que obtuvimos fueron activadas en un tubo con caldo BHI (Caldo infusión cerebro corazón) marca (Merck) y una placa con agar BHI, se activó a 37 °C durante 24 horas y las condiciones fueron de anaerobiosis total, es decir con CO₂ al 5% en una jarra de anaerobiosis.

1.17.7 Elaboración del gel a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill (eucalipto)

Al hallar la capacidad mínima bactericida (CMB) podemos a partir de esta concentración elaborar nuestro gel a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill.

1.17.7.1 Elaboración propiamente dicha

Equipos

- Balanza analítica

Materiales de vidrio

- Probetas de 25 y 50 mL
- Tubos de ensayo 13 X 100 mm
- Bagueta

Reactivos.

- Vaselina (inodora, incolora, insípida)

Otros.

- Gradillas
- Mascarilla
- Guantes quirúrgicos
- Algodón pabilo
- Papel aluminio
- Marcadores

Preparación.

Lo primero que se realizó es hallar un reactivo incoloro, inodoro e insípido y que no tenga ningún tipo de reacción frente a nuestro aceite esencial de eucalipto. Además, que presente una solución homogénea, para lo cual escogimos la vaselina por sus propiedades (incoloro, inodoro e insípido) y

además que podía mezclarse con el aceite esencial de eucalipto y preservarse como una solución homogénea.

Asesoría.

Todo bajo la supervisión del Biólogo Edwin Obando, que además nos asesoró en la preparación del gel. Todo el procedimiento se realizó en los laboratorios de biología de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann.

1.18 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

1.18.1 VALORACIÓN DE LA ACTIVIDAD DEL ACEITE ESENCIAL DE *Eucalyptus globulus* Labill

Para la presente evaluación del aceite se realizaron tres procedimientos: la activación de la bacteria, la preparación del inóculo, y el análisis de su efecto antibacteriano (Difusión en agar, MIC y CMB).

1.18.2 ACTIVACIÓN DE *Porphyromonas gingivalis*

Para esta activación, se reconstituye la cepa al inocularla en medios de cultivo en los cuales se la inoculo hasta su total crecimiento. *Porphyromonas gingivalis* se usó 3 placas de Agar Base Sangre y Agar Müeller Hinton (Merck), se envolvieron e incubaron en cámara de anaerobiosis a 37 °C por 24 horas. Se obtuvo crecimiento en 2 placa de Agar Müeller Hinton (Merck) la cual utilizaremos para la preparación del inóculo.

1.18.3 PREPARACIÓN DEL INOCULO

Se comenzó utilizando un asa de Kholle con la cual se pudo manipular la *Porphyromonas gingivalis*, los microorganismos fueron cultivados en viales de Anaerobiosis para su mantención; se prosiguió con su reactivación en caldo BHI, luego se homogenizo las colonias y se incubaron a una temperatura de 37 °C por un tiempo de 6 horas, para lograr una concentración final de 1,5 X 10⁸ UFC/ml y compararla con un tubo 0,5 en la escala de Mc Farland.

1.18.4 PREPARACIÓN DE LOS DISCOS

Para esta prueba se prepararon discos de sensibilidad con antibióticos de papel filtro (Wathman N° 42) de aproximadamente 6 mm de diámetro, para lo cual se determinó que fueran 2 discos por cada concentración, por lo cual fueron en total 24 discos ya que se realizaron 12 pruebas y 2 más para el control negativo. Se colocaron en un beaker de 100 mL con agua destilada para su esterilización y desnaturalización del antibiótico en autoclave (121 °C, 15 lb por 15 minutos). Posteriormente, se vació el agua del beaker que contiene la solución desnaturalizada y el beaker conteniendo los discos se los llevo a estufa regulada a 170 °C por 1 hora para su secado, para posteriormente ser usados. El efecto inhibitorio se observó en discos impregnados y previamente esterilizados de 6 mm de diámetro, se logró hacer 4 repeticiones en cada tratamiento.

Control negativo: Fue realizado en un disco de sensibilidad de antibiótico desnaturalizado el cual se impregno de agua destilada para descartar el efecto antibacteriano del mismo. Con el fin de saber entre cuales de estas concentraciones presenta mayor formación de halo de inhibición; incubándolos de igual forma a 37 °C por un tiempo de 24 horas.

1.18.5 PREPARACIÓN DEL MEDIO PARA LA PRUEBA DE SENSIBILIDAD

Se empleó el medio Mueller Hinton (Merck), Se preparó el medio como indica la casa comercial.

1.18.6 INOCULACIÓN

Se comenzó inoculando la placa de agar MH (MERK), se depositó 100 µl del inóculo sobre la superficie de cada del agar, se procedió a la homogenización para lograr la presencia uniforme del inóculo en la superficie del agar, se dejó reposar de 3 a 5 minutos y se procedió a colocar los dos discos por cada placa, (se usó dos placas por concentración) de agar Mueller Hinton (Merck). A los discos se le añadió aceite esencial puro, los discos fueron embebidos con 2,5 µl; 5,0 µl; 7,5 µl; 10,0 µl; 12,5 µl; 15,0 µl; 17,5 µl; 20,0 µl; 22,5 µl; 25,0 µl; 27,5 µl y 30,0 µl. Se presionó suavemente para asegurar el contacto con el medio.

Tabla 1

Concentración del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill en los discos para las cepas de *Porphyromonas gingivalis*

TRATAMIENTO	ACEITE ESENCIAL	
	VOLUMEN (µl)	CONCENTRACION (mg/mL)
T1	2,5	2,189237
T2	5,0	4,378474
T3	7,5	6,567711
T4	10,0	8,189237
T5	12,5	10,946185
T6	15,0	13,135422
T7	17,5	15,324659
T8	20,0	17,513896
T9	22,5	19,703133
T10	25,0	21,189237
T11	27,5	24,081607
T12	30,0	26,270769

Fuente: Elaboración propia

1.18.7 INCUBACIÓN

En este proceso fue requerido el uso de la cámara de anaerobiosis en la cual se dejó las placas envueltas en papel kraft a 37 °C durante 24 horas.

1.18.8 LECTURA

Para un resultado más preciso para la lectura se usó un Vernier, el cual fue utilizado para medir el diámetro logrado por los halos de inhibición. El diámetro de esta zona de inhibición fue directamente proporcional a la actividad antibacteriana del aceite esencial sobre los microorganismos estudiados. Para interpretar los resultados se tomó como referencias las pautas por (DURAFFOURD y LAPRAZ, 1983) que considera la actividad de los aceites esenciales como:

- Nula (-) si fue inferior o igual a 8 mm.
- Sensibilidad limite (sensible = +) de 9 a 14 mm.
- Sensibilidad media (muy sensible = ++) de 15 a 19 mm.
- Sumamente sensible (S.S. = +++) si fue igual o superior a 20 mm.

1.18.9 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI) (VALDEZATE ET AL., 2001)

1.18.9.1 PREPARACIÓN DE LAS DILUCIONES DEL ACEITE ESENCIAL

Se comenzó preparando una solución madre de 1000 µl de aceite esencial en 1 000 µl de DMSO (Dimetilsulfóxido), para 18 000 µl de Caldo MH (Merck). La concentración final se obtuvo de la siguiente manera.

Se determinó la densidad del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill (DURAFFOURD y LAPRAZ, 1 983)

Probeta de 5 mL. vacía = 16,2959 g.

Se procede primero al pesado de la probeta vacía para de esta manera determinar el peso neto del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill

Probeta de 5 mL. con aceite = 17,4343 g.

Al determinar el peso de la probeta de 5 mL. junto con el aceite se hace una simple resta para determinar la masa del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill

Masa = 17,4343 – 16,2959 = 1,1384

Para determinar el volumen simplemente se tiene que observar el indicador en la probeta en el cual se colocó los 1,3 mL. de esta manera sabemos que el volumen del aceite esencial de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill es de 1,3 mL.

$$\text{Volumen} = 1,3 \text{ mL.}$$

Para utilizar la formula con la que podemos hallar la densidad de nuestro aceite esencial de *Eucalyptus globulus* **Labill** necesitamos los datos obtenidos con anterioridad como lo son:

$$D = \text{densidad (g/mL)}$$

$$M = \text{masa (g)}$$

$$V = \text{volumen (mL)}$$

$$M = 1,1384 \text{ g}$$

$$V = 1,3 \text{ mL}$$

$$D = \frac{M}{V}$$

$$V$$

Se procede a ubicar los valores en la fórmula de manera que obtengamos el resultado con g/mL

$$D = \frac{1,1384 \text{ g}}{1,3 \text{ mL}}$$

$$1,3 \text{ mL}$$

$$D = 1,1384 \text{ g} \text{ -----} 1,3 \text{ mL}$$

$$D = X \text{-----} 1 \text{ mL}$$

$$D = 0,8756923 \text{ g/mL}$$

Al obtener el resultado, tendremos la respuesta en gramos la cual tendrá que ser pasada a miligramos, esto simplemente se realizara con una regla de tres simples.

$$1 \text{ g} \text{ -----} 1 \text{ 000 mg}$$

$$0,876923 \text{ g/mL} \text{ -----} x$$

$$D = 875,6923 \text{ mg/mL}$$

Al obtener la respuesta ya en mg/ml se procede a transformar en la unidad a trabajar la densidad

$$\begin{array}{l} 875,6923\text{mg/mL} \text{ ----- } 1\ 000\ \text{mcl} \\ 2,1892307 \text{ ----- } 2,5\ \mu\text{l} \end{array}$$

Obtenemos que en 1 mL de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill encontramos 875,6923mg/mL.

1.18.9.2 PREPARACIÓN DE SOLUCIÓN MADRE

Se procede a calcular los volúmenes necesarios para la elaboración de nuestra solución madre por medio de regla de 3 simples y medidas ya determinadas para cada uno.

Tabla 2

Determinación de cantidad de soluciones para solución madre utilizada para hallar el MIC del aceite de *Eucalyptus globulus* Labill

MH	34g -----1 000mL. x-----390mL.	34g -----1 000mL 13,26 g-----390mL.	13,26 g
BHI	37g -----1 000mL x-----30mL.	37g -----1 000mL 1,110 g-----30mL.	1,110 g
AN	28g -----1 000mL x-----60mL.	28g -----1 000mL 1,680 g-----60mL.	1,680 g
BS	40g -----1 000mL x-----60mL.	40g -----1 000mL 2,4 g-----60mL.	2,4 g

Fuente: Elaboración propia

Se elabora la solución madre que el volumen de aceite tiene que ser el mismo al de Dimetilsulfóxido en este caso 4 000 µl en cada una

por tal que entre las dos, sumaría 8 000 µl y como queremos preparar 20 000 µl el restante que sería caldo BHI sería 1 2000.

Es sabido que en 1mL de aceite existe 875,6923, nosotros queremos saber cuántos µl existen en 4 000 de aceite mediante la siguiente forma lo podremos hallar y esta misma concentración se mantendrá en el caldo de 20 000 µl

Tabla 3

Cantidades utilizadas en solución madre para hallar el MIC

SOLUCION MADRE		CALDO BHI		ACEITE + DSMO (DIMETILSULFOXIDO)	
BHI	12000		VOLUMEN = 20 ml = 20000		
ACEITE	4000		1ml ACEITE = 875,6923 mg/ml		
DSMO	4000				
total	20000				

$1\text{ml} = 1000\text{ ul.} = 875,6923\text{ mg/ml}$ $4000\text{ ul.} = 3502.7692$ 20000 ul
--

Fuente: Elaboración propia

Se procede a determinar que si estamos trabajando a partir de la mayor concentración de la prueba de Kirby Bauer que es 26,270769 tiene que ser multiplicada por 3 para lograr su concentración inicial en la solución madre, antes de ser diluida en esta solución, esto nos daría como respuesta los 78,812307, a partir de este resultado deberíamos hallar el volumen de solución madre a utilizar en cada uno de los tubos.

Con la siguiente fórmula.

$$\frac{3502,7692 \text{ mg/mL} \text{ -----} 20\ 000}{78,812307 \text{ mg/mL} \text{ -----} X}$$

En este caso la respuesta sería 450 μl . a partir de este volumen tenemos que ir aumentando de 10 en 10 μl ., hallando su concentración inicial y final cosa que es desarrollada en una siguiente tabla.

En la tabla desarrollada se puede encontrar la concentración inicial de la solución madre.

A partir de esto podremos hallar el MIC en cada una de las soluciones por medio de la evaluación de turbidez

Tabla 4

Concentración inicial del tratamiento de *Eucalyptus globulus* Labill para la prueba de Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) para *Porphyromonas gingivalis*

Nº DE TUBO	CONCENTRACIÓN INICIAL DE LA SOLUCIÓN MADRE HALLAR	VOLUMEN DE LA SOLUCIÓN MADRE EN TOTAL	VOLUMEN DE ACEITE EN LA SOLUCIÓN MADRE
TOTAL	3 502,7692 g	20 000 µl	4 000 µl
1	78.812	450 µl	
2	80.564	460 µl	
3	82.311	470 µl	
4	84.066	480 µl	
5	85.818	490 µl	
6	87.569	500 µl	
7	89.321	510 µl	
8	91.072	520 µl	
9	92.823	530 µl	
10	94.575	540 µl	
11	96.326	550 µl	
12	98.078	560 µl	
13	99.829	570 µl	
14	101.580	580 µl	
15	103.332	590 µl	
16	105.083	600 µl	
17	106.834	610 µl	
18	108.586	620 µl	
19	110.337	630 µl	
20	112.089	640 µl	
21	113.840	650 µl	
22	115.591	660 µl	
23	117.591	670 µl	
24	119.094	680 µl	
25	120.846	690 µl	
26	122.597	700 µl	
27	124.348	710 µl	
28	126.100	720 µl	
29	127.851	730 µl	
30	129.602	740 µl	
31	131.354	750 µl	

Fuente: Elaboración propia

1.18.10 PREPARACIÓN DEL CMI (CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA) PARA *Porphyromonas gingivalis*.

Se procedió a colocar 31 tubos de 15 X 125 mm a los cuales se les agregó lo demostrado en la TABLA 5:

Tabla 5

Volúmenes detallados de cada uno de los insumos utilizados para hallar el MIC

N° DE TUBO	VOLUMEN DE SOLUCIÓN MADRE	VOLUMEN DE BACTERIA	CALDO BHI	VOLUMEN TOTAL
T 1	450 µl	300 µl	2 250 µl	3000 µl
T 2	460 µl	300 µl	2 240 µl	3 000 µl
T 3	470 µl	300 µl	2 230 µl	3 000 µl
T 4	480 µl	300 µl	2 220 µl	3 000 µl
T 5	490 µl	300 µl	2 210 µl	3 000 µl
T 6	500 µl	300 µl	2 200 µl	3 000 µl
T 7	510 µl	300 µl	2 190 µl	3 000 µl
T 8	520 µl	300 µl	2 180 µl	3 000 µl
T 9	530 µl	300 µl	2 170 µl	3 000 µl
T 10	540 µl	300 µl	2 160 µl	3 000 µl
T 11	550 µl	300 µl	2 150 µl	3 000 µl
T 12	560 µl	300 µl	2 140 µl	3 000 µl
T 13	570 µl	300 µl	2 130 µl	3 000 µl
T 14	580 µl	300 µl	2 120 µl	3 000 µl
T 15	590 µl	300 µl	2 110 µl	3 000 µl
T 16	600 µl	300 µl	2 100 µl	3 000 µl
T 17	610 µl	300 µl	2 090 µl	3 000 µl
T 18	620 µl	300 µl	2 080 µl	3 000 µl
T 19	630 µl	300 µl	2 070 µl	3 000 µl
T 20	640 µl	300 µl	2 060 µl	3 000 µl
T 21	650 µl	300 µl	2 050 µl	3 000 µl
T 22	660 µl	300 µl	2 040 µl	3 000 µl
T 23	670 µl	300 µl	2 030 µl	3 000 µl
T 24	680 µl	300 µl	2 020 µl	3 000 µl
T 25	690 µl	300 µl	2 010 µl	3 000 µl
T 26	700 µl	300 µl	2 000 µl	3 000 µl
T 27	710 µl	300 µl	1 990 µl	3 000 µl
T 28	720 µl	300 µl	1 980 µl	3 000 µl
T 29	730 µl	300 µl	1 970 µl	3 000 µl
T 30	740 µl	300 µl	1 960 µl	3 000 µl
T 31	750 µl	300 µl	1 950 µl	3 000 µl

De esta manera podemos observar que las concentraciones finales cambiaron ya que en el caso del primer tubo que se llevó 450 µl los cuales tendrían una concentración de 78,812307 mg/mL de la siguiente manera:

$$875,6923\text{mg/mL} \text{-----} 1\ 000\ \mu\text{l}$$

$$X \text{-----} 450\ \mu\text{l}$$

$$X = 78,812307\ \text{mg}$$

Esta concentración se diluyó en 3000 µl y tuvo una concentración final para el CMI de 26.270769 mg/mL

Los tubos ya realizados quedaron con las concentraciones de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill, luego se les agrego 300 µl. De solución bacteriana de *Porphyromonas gingivalis* a cada uno de los tubos. Por último, se procedió con la incubación por anaerobiosis.

Tabla 6

Concentración inicial del tratamiento de *Eucalyptus globulus* Labill para la prueba de Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) para *Porphyromonas gingivalis*.

N° DE TUBULO	VOLUME N DE SOLUCIO N MADRE	CONCENTRACION INICIAL	VOLUME N DE BACTERIA	CALDO BHI	VOLUME N TOTAL	CONCENTRACION FINAL
1	450 µl	78,812307	300 µl	2 250 µl	3 000 µl	26,270764
2	460 µl	80,5636916	300 µl	2 240 µl	3 000 µl	26,854563
3	470 µl	82,3107620	300 µl	2 230 µl	3 000 µl	27,438358
4	480 µl	84,0664608	300 µl	2 220 µl	3 000 µl	28,0221536
5	490 µl	85,8178454	300 µl	2 210 µl	3 000 µl	28,605948
6	500 µl	87,5692300	300 µl	2 200 µl	3 000 µl	29,189743
7	510 µl	89,3206146	300 µl	2 190 µl	3 000 µl	29,7735382
8	520 µl	91,0719992	300 µl	2 180 µl	3 000 µl	30,357333
9	530 µl	92,8233838	300 µl	2 170 µl	3 000 µl	30,94112793
10	540 µl	94,5747684	300 µl	2 160 µl	3 000 µl	31,5249228
11	550 µl	96,3261530	300 µl	2 150 µl	3 000 µl	32,10871766
12	560 µl	98,0775376	300 µl	2 140 µl	3 000 µl	32,69251253
13	570 µl	99,8289222	300 µl	2 130 µl	3 000 µl	33,2763074
14	580 µl	101,5803010	300 µl	2 120 µl	3 000 µl	33,86010033
15	590 µl	103,3316914	300 µl	2 110 µl	3 000 µl	34,44389713
16	600 µl	105,0830760	300 µl	2 100 µl	3 000 µl	35,027692
17	610 µl	106,8344606	300 µl	2 090 µl	3 000 µl	35,61148687
18	620 µl	108,5858452	300 µl	2 080 µl	3 000 µl	36,19528173
19	630 µl	110,3372298	300 µl	2 070 µl	3 000 µl	36,7790766
20	640 µl	112,0886144	300 µl	2 060 µl	3 000 µl	37,36287147
21	650 µl	113,8399990	300 µl	2 050 µl	3 000 µl	37,94666633
22	660 µl	115,5913836	300 µl	2 040 µl	3 000 µl	38,5304612
23	670 µl	117,5913836	300 µl	2 030 µl	3 000 µl	39,11425606
24	680 µl	119,0941528	300 µl	2 020 µl	3 000 µl	39,69805
25	690 µl	120,8455374	300 µl	2 010 µl	3 000 µl	40,2818458
26	700 µl	122,5969220	300 µl	2 000 µl	3 000 µl	40,86564066
27	710 µl	124,3483066	300 µl	1 990 µl	3 000 µl	41,44943553
28	720 µl	126,0996912	300 µl	1 980 µl	3 000 µl	42,0332304
29	730 µl	127,8510758	300 µl	1 970 µl	3 000 µl	42,61702527
30	740 µl	129,6024604	300 µl	1 960 µl	3 000 µl	43,20082013
31	750 µl	131,3538450	300 µl	1 950 µl	3 000 µl	43,784615

1.18.10.1.1 Determinación de la concentración mínima bactericida (CMB)

Para determinar el CMB se analiza a partir del primer tubo en el cual ya no se ve crecimiento bacteriano, (SIN TURBIDEZ), y se analiza 6 tubos de concentraciones más altas, se realiza el cultivo de estos 6 tubos en placas Petri, se realiza el mismo procedimiento colocándolos en una cámara de anaerobiosis por 24 horas y en la placa en la cual no encontremos crecimientos de colonias será la que elegiremos como nuestra CMB.

1.18.10.1.2 Elaboración del gel a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill (eucalipto)

Al hallar la capacidad mínima bactericida (CMB) podemos a partir de esta concentración elaborar nuestro gel a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill utilizando la concentración y volumen necesarios y sometiendo a las repeticiones que sean requeridas para determinar su efecto antibacteriano, se desarrollaron 20 repeticiones con esta misma concentración en agar Müeller Hinton, se cultivó la bacteria y con un sacabocado se realizó el espacio para la colocación de nuestro gel; posteriormente se dejó reposar por 5 minutos para lograr incubar a 37 °C por un día en la cámara de anaerobiosis. Transcurrido este tiempo se procedió a la medición de los halos de inhibición de las 20 placas presentes para determinar el grado de sensibilidad y si este fue positivo o negativo por el cambio de aceite

esencial de *Eucalyptus globulus* Labill a gel a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill.

1.18.10.1.3 Procesamiento y análisis estadístico

Todos los datos fueron procesados a través del software estadístico SPSS versión 18.0 para Windows. Todos los tratamientos a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill se expresaron en mg/mL, mientras que los promedios de los halos de sensibilidad se expresaron en milímetros (mm). La prueba estadística aplicada para comparar fue mediante t de student, considerándose al valor $p < 0.05$ para la interpretación de los resultados

CAPÍTULO VI

Resultados

Se realizó el estudio in vitro en la especie bacteriana: *Porphyromonas gingivalis*, de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill,

Los resultados obtenidos en las diferentes pruebas realizadas a la planta en estudio han sido agrupados en cuadros y figuras para la mejor interpretación de los resultados que se detallan a continuación. Se utilizó el diseño completamente aleatorio, debido a que este es un diseño de simple distribución al azar siendo útil para métodos y técnicas de laboratorio.

Tabla 7**Composición físico químico del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill**

Determinación cualitativa	Determinación Cuantitativa
3-Pentanol, 3-methyl-	3,21 %
2-Hexanone	3,1 %
Cyclopentanol, 1-methyl-	6,04 %
.alpha,-Pino	4,46 %
Phenol,2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	8,1 %
1-Decene	5,81 %
Eucaliptol	9,72 %
Undecane	5,12 %
1-Tridecene	14,7 %
Dodecane	3,63 %
3-Heptadecene, (Z)-	36,13 %

La tabla 7 nos detalla la composición fisicoquímica cualitativa y cuantitativa del aceite esencial *Eucalyptus globulus* Labill. Para lo que se hizo la determinación cualitativa de metabolitos secundarios, cromatografía gaseosa con detección de masas (denominación NIST) y para el proceso cuantitativo de metabolitos secundarios (%) cromatografía gaseosa con detección de masas, método de cuantificación, por normalización interna (área).

Donde en mayor proporción (36,13%) se encuentra el 3-Heptadecene, (Z)- cuya fórmula química es: $C_{17}H_{34}$ y cuya propiedad física es la inhibición microbiana, seguido de un 14% de 1-Tridecene ($C_{13}H_{26}$), una sustancia extracto natural un 9.72% de eucaliptol que es un compuesto orgánico natural aceitoso. Es un éter

cíclico y un monoterpenoide, forma aductos cristalinos con ácidos hidrohálicos, o-cresol, resorcinol y ácido fosfórico. La formación de estos aductos es útil para la purificación.

Los demás elementos se muestran en menor proporción.

Tabla 8**Prueba de actividad antibacteriana del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill frente a *Porphyromonas gingivalis* por el método de difusión de disco (Kirby Bauer)**

Tratamiento	Aceite esencial		Placa 1		placa 2		PROMEDIO
	Volumen (µl)	Concentración (mg/mL)	Halo 1 (mm)	Halo 2 (mm)	Halo 3 (mm)	Halo 4 (mm)	
T1	2,5	2,19	Diámetro de halo no registrable				-
T2	5,0	4,38	Diámetro de halo no registrable				-
T3	7,5	6,57	Diámetro de halo no registrable				-
T4	10,0	8,19	Diámetro de halo no registrable				-
T5	12,5	10,95	Diámetro de halo no registrable				-
T6	15,0	13,14	Diámetro de halo no registrable				-
T7	17,5	15,32	Diámetro de halo no registrable				-
T8	20,0	17,51	Diámetro de halo no registrable				-
T9	22,5	19,70	5,34	5,66	4,22	5,44	5,1650
T10	25,0	21,19	8,57	7,55	8,44	7,30	7,9650
T11	27,5	24,08	11,58	10,45	9,48	8,81	10,0800
T12	30,0	26,27	12,02	11,59	8,57	9,95	10,5325

Fuente: Elaboración propia

Para la prueba de Kirby Bauer que es la que se desarrolló para observar en qué tubos se encontraría el MIC. Se observa que a concentraciones menores de 17,51 mg/mL el diámetro del halo no fue registrable; mientras que en las concentraciones mayores se llegó a observar un halo de inhibición, pero no fue el suficiente, el cual debería ser mayor a los 14 mm. Se decide ampliar el tamaño de la muestra de tubos de ensayo a 30 tubos para lograr un mejor MIC; desde el tubo con mayor concentración (T9) hacia adelante.

Se pudo comprobar que las concentraciones superiores a 26,27 mg/mL podría ofrecer una mejor inhibición.

Tabla 9

Determinación del grado de sensibilidad de *Porphyromonas gingivalis* a diferentes concentraciones de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill

Tratamiento	ACEITE ESENCIAL		GRADO DE SENSIBILIDAD		
	Volumen (μl)	Concentración (mg/mL)	Sensibilidad límite entre 9 a 14 mm (sensible = +)	Sensibilidad media entre 15 a 19 mm (sensible = ++)	Sumamente sensible de 20 mm a mas (sensible = +++)
T1	2,5	2,189237	-	-	-
T2	5,0	4,378474	-	-	-
T3	7,5	6,567711	-	-	-
T4	10,0	8,189237	-	-	-
T5	12,5	10,946185	-	-	-
T6	15,0	13,135422	-	-	-
T7	17,5	15,324659	-	-	-
T8	20,0	17,513896	-	-	-
T9	22,5	19,703133	5,1650 mm.	-	-
T10	25,0	21,189237	7,9650 mm.	-	-
T11	27,5	24,081607	10,0800 mm.	-	-
T12	30,0	26,270769	10,5325 mm.	-	-

Fuente: Elaboración propia

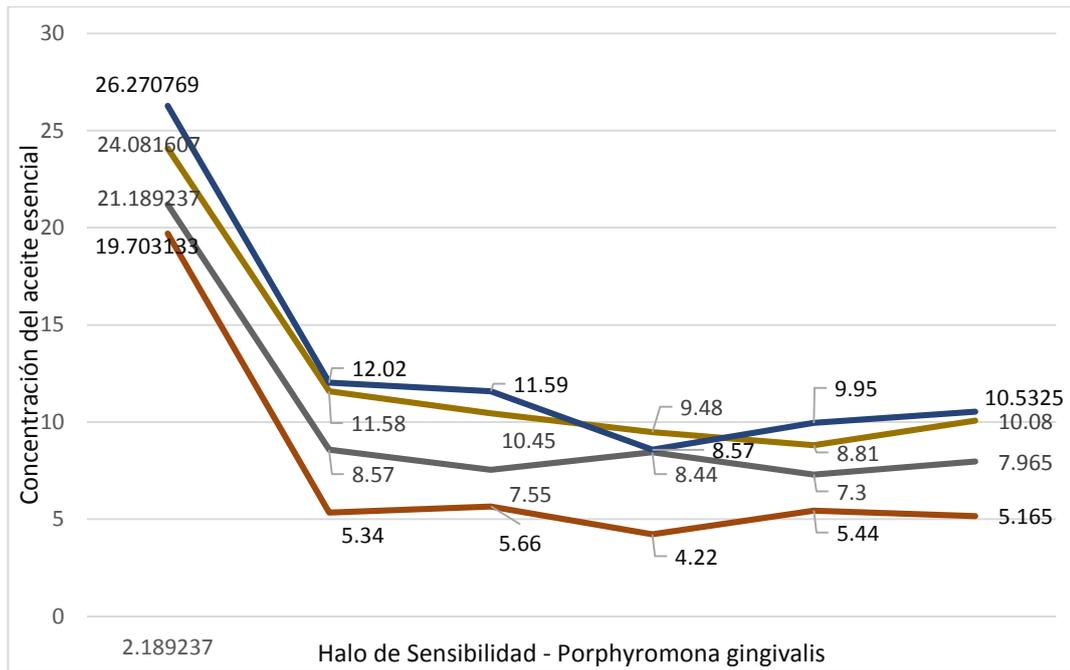


Figura 1. **Determinación del grado de sensibilidad de *Porphyromonas gingivalis* a diferentes concentraciones de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill**

En la tabla 08 y figura 01, se observa los niveles límite de halo de inhibición pudiéndose observar que al inicio concentraciones entre 19,51 a 26,27 mg/mL demuestran un halo de sensibilidad entre 9 a 14 mm.

Tabla 10**Concentración inicial a considerar en cada tubo de ensayo**

Nº DE TUBO	CONCENTRACION INICIAL DE LA SOLUCION MADRE HALLAR	VOLUMEN DE LA SOLUCION MADRE EN TOTAL	VOLUMEN DE ACEITE EN LA SOLUCION MADRE
TOTAL	3502,7692 g	20000 µl	4000 µl
1	78,8123071	450 µl	
2	80,5636916	460 µl	
3	82,3107620	470 µl	
4	84,0664608	480 µl	
5	85,8178454	490 µl	
6	87,5692300	500 µl	
7	89,3206146	510 µl	
8	91,0719992	520 µl	
9	92,8233838	530 µl	
10	94,5747684	540 µl	
11	96,3261530	550 µl	
12	98,0775376	560 µl	
13	99,8289222	570 µl	
14	101,5803010	580 µl	
15	103,3316914	590 µl	
16	105,0830760	600 µl	
17	106,8344606	610 µl	
18	108,5858452	620 µl	
19	110,3372298	630 µl	
20	112,0886144	640 µl	
21	113,8399990	650 µl	
22	115,5913836	660 µl	
23	117,5913836	670 µl	
24	119,0941528	680 µl	
25	120,8455374	690 µl	
26	122,5969220	700 µl	
27	124,3483066	710 µl	
28	126,0996912	720 µl	
29	127,8510758	730 µl	
30	129,6024604	740 µl	
31	131,3538450	750 µl	

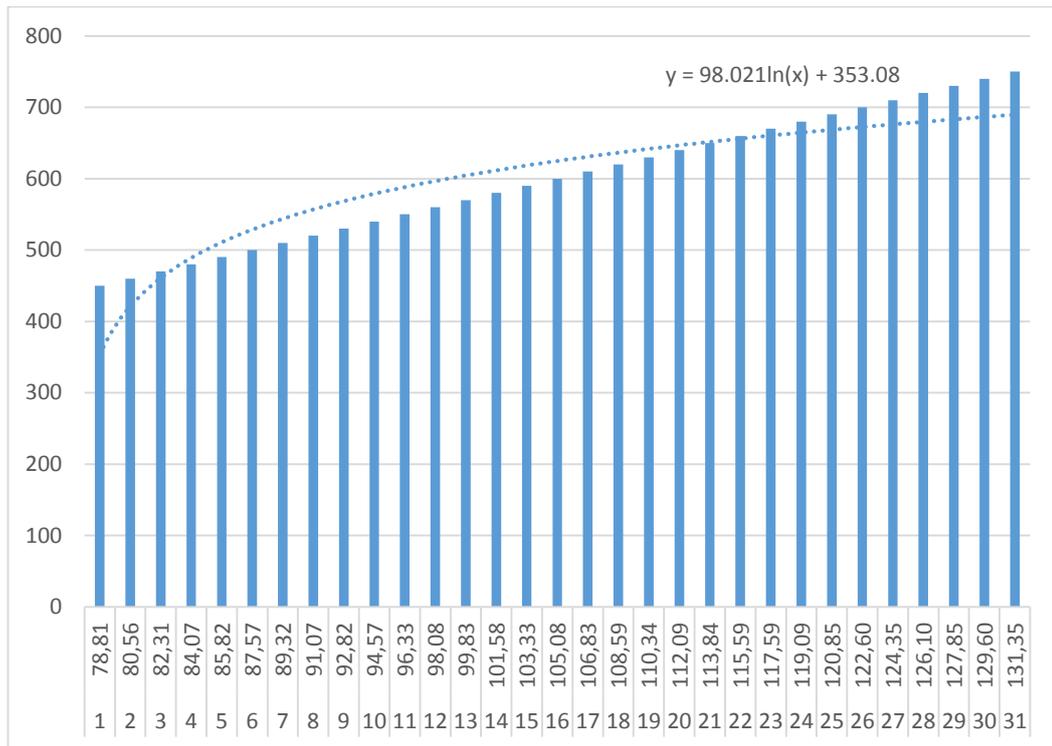


Figura 2: Concentraciones según tubo de ensayo

En la tabla 9 y figura 2, se muestra la concentración inicial de cada tubo de ensayo. Donde lo que se intenta explicar en la siguiente imagen que habiendo utilizado 4 000 µl de aceite en la concentración madre hallamos que su concentración es de 3 502,7692 g, y de igual manera esos 4 000 µl. se encuentran diluidos en 20 000 µl. por lo por razón proporcional se halló la concentración inicial en cada uno de los tubos (1 al 31) y la concentración final. En la figura 01 se observa que las concentraciones siguieron un patrón regular encontrándose simetría en ellas. Se calculó la línea de tendencia y ecuación de recta que demuestra ello: ($y = 98,021\ln(x) + 353,08$).

Tabla 11**Volumen a utilizar para hallar la concentración mínima bactericida (MIC)**

° de tubo	Volumen de solución madre (µl)	Concentración inicial	Volumen de bacteria (µl)	Caldo BHI (µl)	Volumen total (µl)	Concentración final
1	450	78,812307	300	2 250	3 000	26,27
2	460	80,636916	300	2 240	3 000	26,85
3	470	82,107620	300	2 230	3 000	27,44
4	480	84,0664608	300	2 220	3 000	28,02
5	490	85,8178454	300	2 210	3 000	28,61
6	500	87,5692300	300	2 200	3 000	29,19
7	510	89,3206146	300	2 190	3 000	29,77
8	520	91,0719992	300	2 180	3 000	30,36
9	530	92,8233838	300	2 170	3 000	30,94
10	540	94,5747684	300	2 160	3 000	31,52
11	550	96,3261530	300	2 150	3 000	32,11
12	560	98,0775376	300	2 140	3 000	32,69
13	570	99,8289222	300	2 130	3 000	33,28
14	580	101,5803010	300	2 120	3 000	33,86
15	590	103,3316914	300	2 110	3 000	34,44
16	600	105,0830760	300	2 100	3 000	35,03
17	610	106,8344606	300	2 090	3 000	35,61
18	620	108,5858452	300	2 080	3 000	36,20
19	630	110,3372298	300	2 070	3 000	36,78
20	640	112,0886144	300	2 060	3 000	37,36
21	650	113,8399990	300	2 050	3 000	37,95
22	660	115,5913836	300	2 040	3 000	38,53
23	670	117,5913836	300	2 030	3 000	39,11
24	680	119,0941528	300	2 020	3 000	39,70
25	690	120,8455374	300	2 010	3 000	40,28
26	700	122,5969220	300	2 000	3 000	40,87
27	710	124,3483066	300	1 990	3 000	41,45
28	720	126,0996912	300	1 980	3 000	42,03
29	730	127,8510758	300	1 970	3 000	42,62
30	740	129,6024604	300	1 960	3 000	43,20
31	750	131,3538450	300	1 950	3 000	43,78

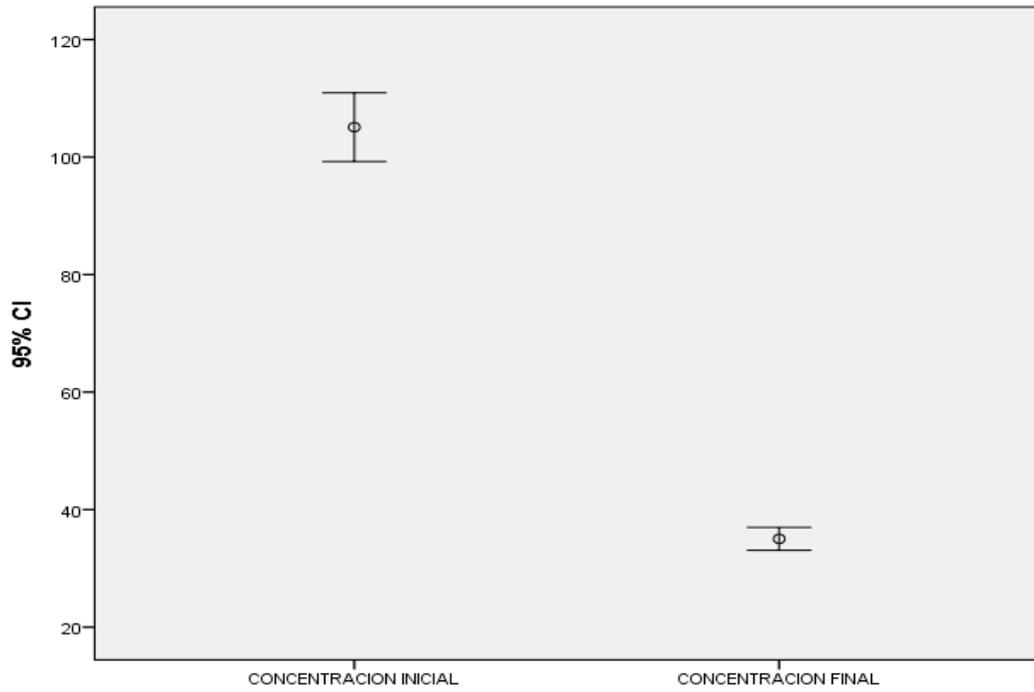


Figura 3: Comparación al 95% de concentración inicial y final

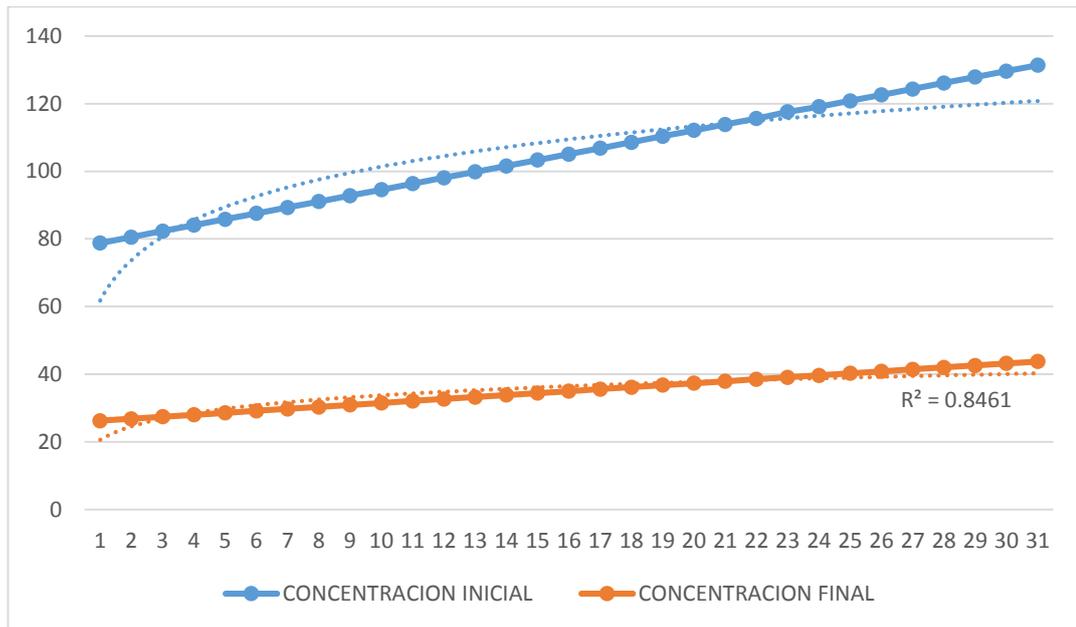


Figura 4: Nivel de dependencia de Concentración inicial y final

En la tabla se puede observar el volumen de solución a utilizar para la prueba de CMB, que fue superior a 26,27 hasta un máximo de 43,78 distribuidos en 31 tubos de ensayos. La tendencia observada en la figura 2 demuestra que el nivel de dependencia entre la concentración inicial y final es superior a 0.8 (r^2 : 0,8461). Lo que se estima que las concentraciones tienen una distribución de aumento homogéneo, lo que hace comparable el fenómeno en los 31 tubos en forma comparativa.

Tabla 12

Concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB) de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill frente a *Porphyromonas Gingivalis*

TUBO	CONCENTRACION	TURBIDEZ
1	26,27	(+)
2	26,85	(+)
3	27,44	(+)
4	28,02	(+)
5	28,61	(+)
6	29,19	(+)
7	29,77	(+)
8	30,36	(+)
9	30,94	(+)
10	31,52	(+)
11	32,11	(+)
12	32,69	(+)
13	33,28	(+)
14	33,86	(+)
15	34,44	(+)
16	35,03	(+)
17	35,61	(+)
18	36,20	(-)
19	36,78	(-)
20	37,36	(-)
21	37,95	(-)
22	38,53	(-)
23	39,11	(-)
24	39,70	(-)
25	40,28	(-)
26	40,87	(-)
27	41,45	(-)
28	42,03	(-)
29	42,62	(-)
30	43,20	(-)

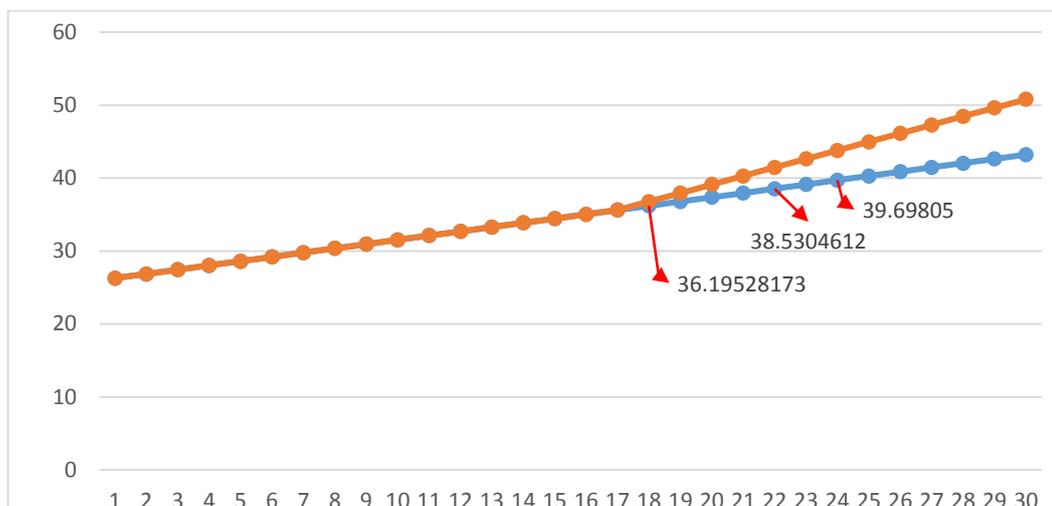


Figura 5: Punto de corte de inicio de inhibición

	t	p	Diferencia de medias	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
				Inferior	Superior
< 36,1	43,271		30,94059	29,4248	32,4564
> 36,2	62,969	0,000	39,69846	38,3248	41,0721

En la tabla 11 y figura 05, se observa que la concentración superior a 36,20 mg/mL de aceite esencial no se presenta turbidez (-) es decir, inhibe el crecimiento de la bacteria en estudio. A concentraciones menores (+) persiste el crecimiento bacteriano. Esto determina que el MIC (Concentración Mínima Inhibitoria) es de 36,20 mg/mL. Se realiza la proyección comparativa que el MIC mejor (95% de I.C.) es de 38,53, del observado en el tubo de ensayo y de 38,32 en el cálculo matemático. Se logra asimismo que concentraciones por encima de ese valor el grado de inhibición supera el 95% de crecimiento bacteriano. (p: 0,000)

Tabla 13**Concentraciones máximas de inhibición al 95% y 100%**

Numero de tubo	Concentración (mg/mL)	UFC/Placa	%
T 18	36,19528173	N.C.	X
T 19	36,7790766	N.C.	X
T 20	37,36287147	N.C.	X
T 21	37,94666633	N.C.	X
T 22	38,5304612	2	95%
T 23	39,11425606	CMB	100%

Se observa que las concentraciones del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* **Labill**, tuvo una característica bactericida total (CMB) (100%) del crecimiento de *Porphyromonas* al nivel de concentración de 39,11425606 mg/mL y niveles bactericidas del 95% en concentración de 38,5304612 mg/mL.

Tabla 14

Medición de halos desarrollada por el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill en la (CMB)

TRATAMIENTO		T23
ACEITE ESENCIAL DE EUCALIPTO	CONCENTRACION (mg/mL)	39,11
TAMAÑOS PROMEDIO DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN		15,67 mm.

En la tabla 14 y se observa el tamaño promedio de los halos de inhibición en las diferentes placas mostrándose un promedio general de 15,67 mm. de un total de 10 placas. A una concentración única de 39,11 mg/mL

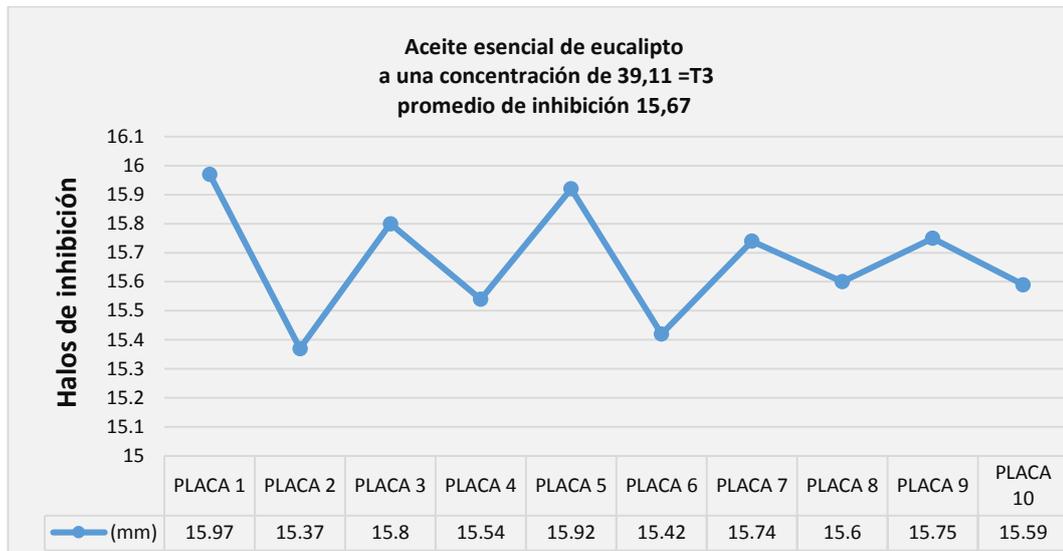


Figura 6: Diámetro de halos de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill frente a *Porphyromonas Gingivalis* en concentración mínima bactericida

En la figura 06 se observa las medidas de los halos de inhibición en (CMB) del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill que en promedio es de 15,67 mm. Demostrando una capacidad bactericida buena.

Tabla 15

Medición de halos desarrollada por el Gel a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill en la (CMB)

TRATAMIENTO		T23
GEL A BASE DE ACEITE ESENCIAL	VOLUMEN (μ l)	44,67
DE EUCALIPTO	CONCENTRACION (mg/mL)	39,11
TAMAÑOS PROMEDIO DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN		25,29 mm.

En la tabla 15 y se observa el tamaño promedio de los halos de inhibición en las diferentes placas mostrándose un promedio general de 25,29 mm. de un total de 20 placas. A una concentración única de 39,11 mg/mL y un volumen de 44,67 μ l

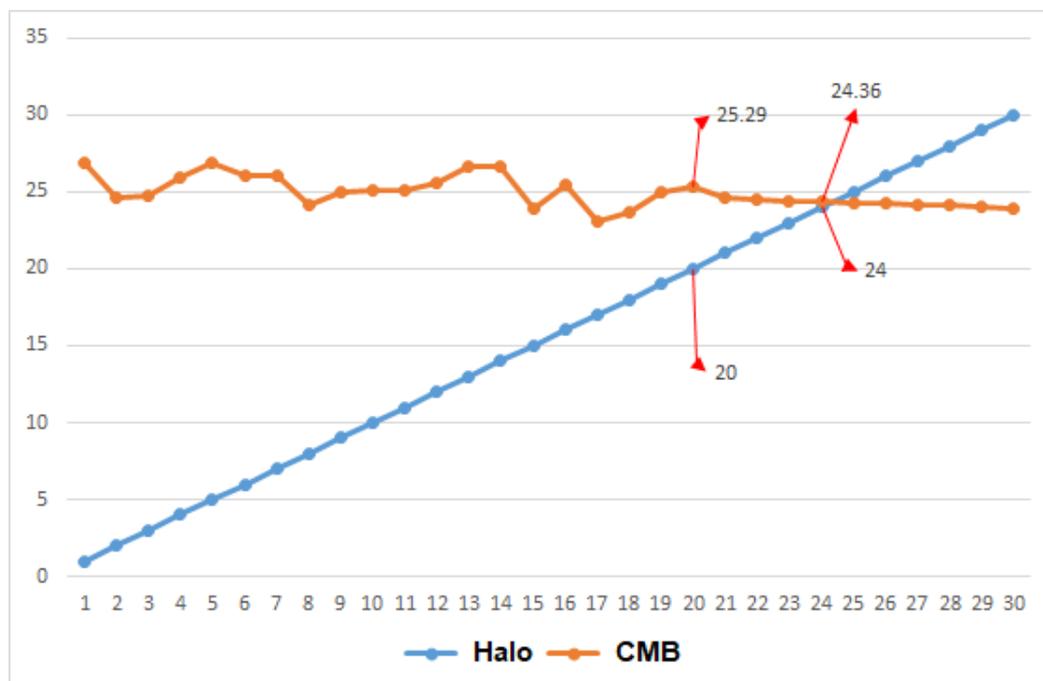


Figura 7: **Punto de corte de eficacia de Gel a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill en la (CMB)**

En la Figura 07 se identifica el punto de corte donde las concentraciones de las diferentes placas evidencian inhibición. Para tal fin se grafica los niveles de concentración (recta Azul). En la curva que grafica los niveles de concentración de los diferentes valores observados en las placas (Curva Roja) el punto de corte entre el valor estimado teórico y el observado es el de 24,36 mg/mL. Podemos estimar que, por encima de ese valor la inhibición estará presente, pudiéndose considerar como valor mínimo para generar inhibición en el *Eucalyptus globulus* Labill.

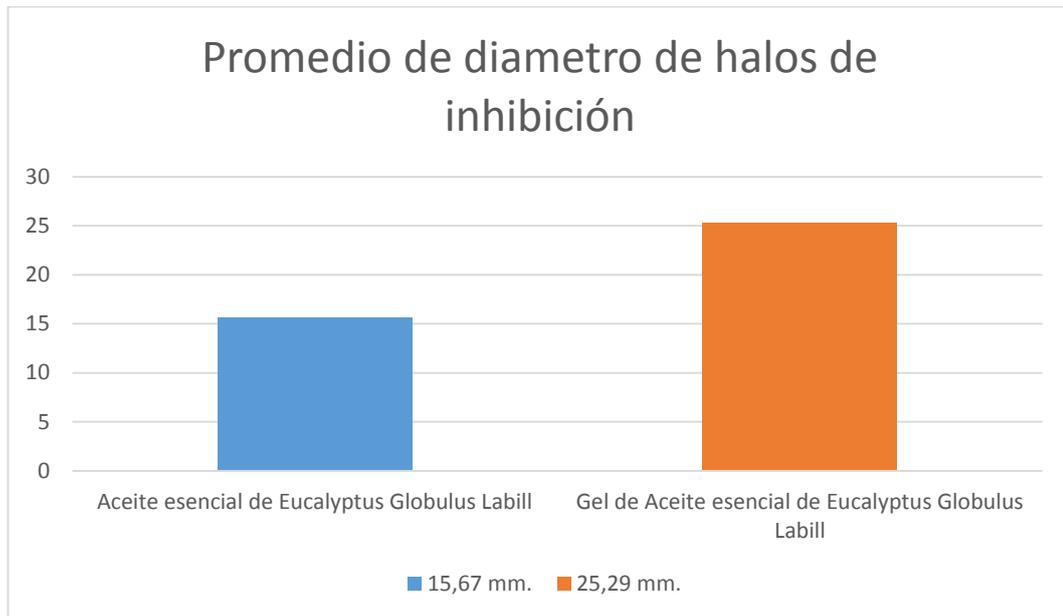


Figura 8: Diferencia entre promedios de halos de inhibición entre el aceite y el gel a base de aceite esencial *Eucalyptus globulus* Labill

En la Figura 08 se identifica la diferencia entre los halos de inhibición siendo en el gel a base de aceite esencial *Eucalyptus globulus* Labill mayor con un 25,29 mm en promedio de halos de inhibición, mientras que el aceite esencial *Eucalyptus globulus* Labill presenta un promedio de 15,67 mm. Demostrando así que el efecto inhibitorio se mantiene en su paso de aceite a gel a base de aceite esencial *Eucalyptus globulus* Labill.

DISCUSIÓN

El aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill se viene utilizando como un antiséptico, además de ser un buen remedio casero para aliviar síntomas de tos, resfriado, dolor de garganta u otros malestares. Este aceite se conoce comercialmente y se produce a partir de las hojas de Eucalipto. Sin embargo, las propiedades no se han investigado mucho.

En el presente estudio se realizó la extracción del aceite esencial de eucalipto en la variedad de *Eucalyptus globulus* Labill y se encontró que tenía 11 componentes químicos, se probó su efectividad frente a la *Porphyromonas gingivalis*, luego se procedió a elaborar un gel a base de este aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill y al igual que el aceite probar su efectividad frente a la *Porphyromonas gingivalis*. Los principales componentes encontrados fueron la 3-Heptadecene, (Z)- (36,13%), 1-Tridecene (14,7%), Eucaliptol o cineol (9,72 %), Phenol, 2,4-bis (1,1-dimethylethyl)- (8,1%) y Cyclopentanol, 1-methyl- (6,04%), α -pineno (4,46%); Estos en conjunto representan el 69,1% del total del aceite esencial, en este sentido, resultados similares en cuanto a la presencia de elementos en mención, **Damjanovic B. V. y Col. (7)** en el año 2011 en Montenegro, hizo un estudio similar y también encontró en su composición 11 elementos, pero las proporciones difieren en gran medida, pues ellos identificación de un total de 11 constituyentes, donde Eucaliptol o cineol (85,8%), α -pineno (7,2%), y β -mirceno (1,5%) son los componentes principales. **Cervantes M. M. y Cols. (14)** Realizo una evaluación microbiológica del aceite esencial de *Eucalyptus urograndis* en *Porphyromonas gingivalis*. En este estudio **Giles M. y Cols.** Citados por **Cervantes M. M. y Cols. (14)** Reportaron la presencia de 1,8-cineol también llamado eucaliptol, citronelal, citronelol, acetato de citronelina, p-cimeno, eucamalol, limoneno, linalool, α -pineno, terpineno, α -terpinol. **Argote V. F. y Cols. (10)**, compararon la capacidad inhibitoria del aceite de eucalipto, mandarina y limón frente al *Staphylococcus aureus*. Se encontraron como principales componentes en el aceite esencial de eucalipto, Eucaliptol o cineol (57,85%), α -pineno (22,81%), α -terpinol acetato

(3,72%), β -Mirceno (1,85%), Viridiflorol (1,6%), β -pineno (1,53%), Aromadendreno (1,49%), α -Terpinol (1,27%)

En uno de los primeros aspectos se logró revisar la composición del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill frente a los componentes obtenidos por otros autores, se observó componentes similares en el aceite esencial de **Damjanovic B. V. y Col. (7)** en el cual encontramos coincidencias en el Eucaliptol o cineol, pero en diferentes porcentajes, presentándose un 85,8% en la muestra de **Damjanovic B. V. y Col. (7)** y un 9,72% en la muestra obtenida por nosotros. Por otro lado, también encontramos coincidencia en α -pineno, compuesto que en el estudio de **Damjanovic B. V. y Col. (7)** se encontró en 7,2%, mientras que en nuestro estudio se encontró en un 4,46%, demostrando una gran diferencia en porcentajes, debido a la diferencia de climas de los cuales fueron obtenidas ambas muestras de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill. En otro estudio presentados por **Argote V. F. y Cols. (10)** nos muestra la presencia de Eucaliptol en 57,85% y α -pineno en 22,81%, a diferencia de las muestras de otros autores y la nuestra, se observa un menor porcentaje de Eucaliptol y a la vez un mayor porcentaje de α -pineno, demostrando así que la presencia de estos elementos es imprescindible en la solución de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill, pero puede estar presente en diferentes cantidades debido a la gran cantidad de variables que puedan influir en ello. En otro estudio **Cervantes M. M. y Cols. (14)** elaboro un aceite esencial de *Eucalyptus urograndis* siendo esta una especie de la familia de los *Eucalyptus*, encontró la presencia de Eucaliptol y α -pineno, demostrando que estos compuestos se encuentran en general en los diferentes tipos de *Eucalyptus*.

Así mismo la efectividad antibacteriana del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill es de 15,67 mm. en promedio según se vio en los halos de inhibición y el gel a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill es de 25,29 mm. en promedio, ambos frente a la *Porphyromonas gingivalis*. **Damjanovic B. V. y Col. (7)** vio la actividad antibacteriana del aceite esencial del *Eucalyptus globulus* Labill. Las pruebas revelaron que el aceite esencial tiene una fuerte actividad antibacteriana, especialmente contra *Streptococcus pyogenes* (Halos de 25mm. a

51mm.), *Escherichia Coli* (Halos de 25mm. a 49mm.), *Candida albicans* (Halos de 15mm. a 47mm.), *Staphylococcus aureus* (Halos de 23mm. a 47mm.), *Acinetobacter baumannii* (Halos de 21mm. a 45mm.) y *Klebsiella Pneumoniae* (Halos de 25mm. a 44mm.) siendo todas estas superiores o dentro de los rangos de inhibición que se encontró en el gel y el aceite a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus Labill* que se realizaron en nuestro estudio. **Siqueira M. V. y Cols. (8)** Observó que el aceite de *Eucalyptus globulus Labill* presentó inhibición superior a la de la clorhexidina cuando fue aplicado al *Staphylococcus aureus* siendo un halo de 40 mm. con la clorhexidina y uno de 90 mm. con el *Eucalyptus globulus Labill*, e inhibición idéntica cuando fue aplicado a los microorganismos *Escherichia Coli* (30 mm.), *Proteus vulgaris* (50 mm.) y *Candida albicans* (50 mm.); Encontrándose todos sus resultados sobre los valores obtenidos en los halos de inhibición por el de aceite esencial de *Eucalyptus globulus Labill* (15,67 mm.) y el gel a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus Labill* (25,29 mm.). **Cervantes M. M. y Cols. (14)** Llevó a cabo una evaluación microbiológica del aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus urograndis*) frente a la bacteria de *Porphyromonas gingivalis*. La mayor inhibición se encontró en la concentración de 15 % con halos de inhibición de 6 a 14 mm. demostrando así que mientras mayor es la concentración de *Eucalyptus urograndis* es mayor su grado de inhibición, al igual que en nuestra investigación, pero con la diferencia que nosotros hayamos la concentración ideal para una total inhibición sobre la *Porphyromonas gingivalis*. **Alzamora L. y Cols. (11)**. Evalúa la efectividad de cinco especies de la flora medicinal empleadas en medicina tradicional en el Perú. En la que el *Eucalyptus globulus Labill* (Eucalipto) presento halos de inhibición de 12mm. A 17mm. Entre los microorganismos puestos a prueba. Comparadas estas investigaciones a la nuestra los valores son muy parecidos a los de aceite esencial de *Eucalyptus globulus Labill* (15,67 mm.) pero muy por debajo del gel a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus Labill* (25,29 mm.). Por otro lado **Pranay J. y Cols. (13)**. Evaluaron la actividad antimicrobiana haciendo un análisis fitoquímico del *Eucalyptus Tereticornis*, para extraer el aceite esencial usaron las cortezas de la planta, en su estudio obtuvieron halos de inhibición de 17 mm. a 27 mm. Frente a

bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* y *Escherichia Coli*. Siendo estos halos muy parecidos a los formados por el aceite y gel a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill encontrándose dentro de los rangos de valores que se presentó.

En cuanto al (MIC) el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill frente a la *Porphyromonas gingivalis* se reportó la ausencia de crecimiento bacteriano en una concentración de 36,20 mg/mL encontrándose una gran diferencia con **Damjanovic B. V. y Col. (7)** que en las pruebas revelan que el aceite esencial tiene una actividad inhibitoria efectiva, especialmente contra *Streptococcus pyogenes* (MIC=0,09mg/mL), *Escherichia Coli* (MIC=0,09mg/mL), *Candida albicans* (MIC=0,36mg/mL), *Staphylococcus aureus* (MIC=0,09mg/mL), *Acinetobacter baumannii* (MIC=1,57mg/mL) y *Klebsiella Pneumoniae* (MIC=1,57mg/mL); Además **Argote V. F. y Cols. (10)**, comparo la capacidad inhibitoria del aceite de eucalipto, mandarina y limón frente al *Staphylococcus aureus* (MIC=6,8mg/mL) y en la *Escherichia coli* (MIC=13,2mg/mL), pero siendo estas concentración mínima inhibitoria (MIC) mucho menores a las encontradas en nuestro estudio, pueden deberse a las características de la especie usada como prueba, pero siendo a la ves eficaz su efecto inhibitorio en todas las pruebas realizadas.

En el presente estudio también se halló la (CMB) del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill frente a la *Porphyromonas gingivalis* se reportó la ausencia de crecimiento bacteriano en una concentración de 39,11 mg/mL encontrándose una gran diferencia con **Damjanovic B. V. y Col. (7)** que en las pruebas revelan que el aceite esencial tiene una fuerte actividad inhibitoria efectiva, especialmente contra *Streptococcus pyogenes* (CMB=0,09mg/mL), *Escherichia Coli* (CMB=0,09mg/mL), *Candida albicans* (CMB=0,36mg/mL), *Staphylococcus aureus* (CMB=0,18mg/mL), *Acinetobacter baumannii* (CMB=1,57mg/mL) y *Klebsiella Pneumoniae* (CMB=6,25mg/mL); Además **Argote V. F. y Cols. (10)**, comparo la capacidad inhibitoria del aceite de eucalipto, mandarina y limón frente al *Staphylococcus aureus* (CMB=6,8mg/mL) y en la *Escherichia Coli* (CMB=13,2mg/mL), pero siendo estas concentración mínima bactericida (CMB)

mucho menores a las encontradas en nuestro estudio, pueden deberse a las características de la especie usada como prueba, pero siendo a la vez eficaz su efecto bactericida en todas.

En aspectos generales en nuestro estudio observamos que del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill. La concentración mínima inhibitoria es superior a 26,27 mm. hasta 43,78 mm. de diámetro, el nivel de dependencia entre la concentración inicial y final es superior a 0,8 (r^2 : 0,8461). La Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) es de 36,20 mg/mL. Mientras la concentración mínima bactericida (CMB) (100%) del crecimiento de *Porphyromonas* es de 39,11425606 mg/mL. Demostrando su eficacia. En presentación de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill, se observa que se tiene un promedio general de 15,67 mm. en el diámetro de halos de inhibición. A una concentración única de 39,11 mg/mL. En presentación de gel, se observa que se tiene un promedio general de 25,29 mm. en el diámetro de halos de inhibición. A una concentración única de 39,11 mg/mL., Existiendo un efecto inhibitorio eficaz al pasar de aceite a gel a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill

Al gel a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill presenta un efecto inhibitorio muy parecido al que presenta el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill demostrando que su elaboración como gel no altera su efecto inhibitorio.

CONCLUSIONES

- I. Se demostró que el gel a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill tuvo un promedio general de 25,29 mm. de diámetro de halo en un total de 20 placas. A una concentración única de 39,11 mg/mL. Demostrando un efecto antibacteriano positivo.
 - a. Se obtuvo y se caracterizó el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill, identificándose como parte de la familia Myrtaceae por cromatografía gaseosa con detección de masas, cuyo contenido en 500gr está compuesto por 36,13% de 3-Heptadecene Z-, 14% de 1-Tridecene (C₁₃H₂₆) y un 9,72% de Eucaliptol; como elementos principales.
 - b. Se evaluó que a concentraciones menores de 17,51 mg/mL el diámetro del halo no fue registrable y a concentraciones superiores a 26,27 mg/mL ofrecen mejor inhibición con una sensibilidad al límite.
 - c. Se determinó que la concentración mínima inhibitoria (MIC) de un aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill frente a *Porphyromonas gingivalis* fue de 36,20 mg/ml.
 - d. Se determinó que la concentración mínima bactericida (CMB) de un aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill frente a *Porphyromonas gingivalis* al 100% fue de 39,11425606 mg/mL y la elaboración del gel a base de aceite esencial de eucalipto fue positiva
 - e. Se comparó que los halos de inhibición en el gel a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill fueron de 25,29 mm. respecto al aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill que fueron de 15,67 mm. Existiendo una diferencia significativa, pudiendo deberse a la consistencia de gel del aceite esencial de *Eucalyptus globulus*

RECOMENDACIONES

1. Al poder demostrar la estabilidad de la capacidad inhibitoria del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill y del gel a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill.
 - a. Se recomienda el mayor uso y promoción de especies botánicas de fácil acceso como lo es el *Eucalyptus globulus* Labill.
 - b. Se recomienda además el mayor uso de principios activos naturales en insumos de uso antimicrobiano en el campo de la odontología.
 - c. Se recomienda la utilización de medios tecnológicos para el fraccionamiento del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill, para la extracción de su principio activo, para conservar sus propiedades y ser usado en tratamientos de periodoncia.
 - d. Se recomienda realizar pruebas in vivo para evaluar la toxicidad que pueda existir en el gel a base de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ministerio de Salud del Perú. Módulo de promoción de la Salud Bucal [Internet]. tercera edición. Lima: MINSA; 2013. 54 p. (Dirección General de Promoción de la Salud. Dirección ejecutiva de Educación para la Salud). Disponible en: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/2573.pdf>
2. Lasa I, Pozo JL del, Penadés JR, Leiva J. Biofilms bacterianos e infección. An Sist Sanit Navar [Internet]. agosto de 2005 [citado 25 de julio de 2020];28(2):163-75. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1137-66272005000300002&lng=es&nrm=iso&tlng=es
3. Ferreira P F, Souza S R, Tavares C J, Groppo FC. Utilización de sustancias naturales en Odontología. O uso de substâncias naturais em Odontologia. Journal Brasileiro de Fitomedicina [Internet]. Brazil de 2015 [citado 25 de julio de 2020];9(2):12. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/233800574_Utilizacion_de_sustancias_naturales_en_Odontologia
4. Pérez L AG. La Biopelícula: una nueva visión de la placa dental. Rev Estomatológica Hered [Internet]. 26 de septiembre de 2014 [citado 26 de julio de 2020];15(1):82-5. Disponible en: <https://revistas.upch.edu.pe/index.php/REH/article/view/1984>
5. Ferro C MB, Gómez G M. Fundamentos de la odontología. Periodoncia [Internet]. Segunda edición. Bogotá - Colombia: Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de odontología; 2002 [citado 26 de julio de 2020]. 586 p. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/315905267/libro-fundamentos-de-la-odontologia-periodoncia-ferro-camargo>
6. Gallegos-Zurita M, Gallegos-Z D. Plantas medicinales utilizadas en el tratamiento de enfermedades de la piel en comunidades rurales de la provincia de Los Ríos Ecuador. An Fac Med [Internet]. julio de 2017 [citado 26 de julio de 2020];78(3):315-21. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1025-55832017000300011&lng=es&nrm=iso&tlng=es
7. Damjanović-Vratnica B, Đakov T, Šuković D, Damjanović J. Antimicrobial effect of essential oil isolated from Eucalyptus globulus Labill. from Montenegro. Czech J Food Sci [Internet]. 13 de mayo de 2011 [citado 26 de julio de 2020];29(No. 3):277-84. Disponible en: <http://www.agriculturejournals.cz/web/cjfs.htm?volume=29&firstPage=277&type=publishedArticle>

8. Mota V, Turrini RN, Poveda V. Actividad antimicrobiana del aceite de *Eucalyptus globulus*, xilitol y papaína: estudio piloto. *Rev Esc Enferm USP Bras* [Internet]. abril de 2015 [citado 26 de julio de 2020];49(2):0216-20. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0080-62342015000200216&lng=en&nrm=iso&tlng=en
9. Aylas C ER. Evaluación de la efectividad antimicrobiana de un colutorio a base de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* Labill (Eucalipto) y *Mintostachys* sp. (Muña), frente a *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Staphylococcus aureus* ATCC 29737 y *Candida albicans* ATCC 10231. [Internet] [Tesis]. [Facultad de Farmacia y Bioquímica. Lima Perú]: Universidad Privada Norbert Wiener; 2017 [citado 26 de julio de 2020]. Disponible en: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/1087>
10. Argote V F, Suarez M Z, Tobar D M, Perez A JA, Hurtado B A, Delgado O J. Evaluación de la capacidad inhibitoria de aceites esenciales en *staphylococcus aureus* y *escherichia coli*. *Biotechnol En El Sect Agropecu Agroindustrial* [Internet]. 1 de julio de 2017 [citado 26 de julio de 2020];15(2):52-60. Disponible en: <https://revistas.unicauca.edu.co/index.php/biotechnologia/article/view/593>
11. Alzamora L, Morales L, Armas L, Fernández G. Medicina Tradicional en el Perú: Actividad Antimicrobiana in vitro de los Aceites Esenciales Extraídos de Algunas Plantas Aromáticas. *An Fac Med* [Internet]. 2010 [citado 26 de julio de 2020];62(2):156-61. Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/anales/article/view/4167>
12. Moreno J, López G, Siche R. Modelación y optimización del proceso de extracción de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus*). Trujillo - Perú. *Sci Agropecu* [Internet]. 19 de junio de 2010 [citado 26 de julio de 2020];1(2):147-54. Disponible en: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/scientiaagrop/article/view/27>
13. Jain P, Nimbrana S, Kalia G. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of *Eucalyptus Tereticornis* bark and leaf methanolic extracts (Kuruskshetra, India): *Int J Pharm Sci Rev Res* [Internet]. 2010;4(2):3. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/cf80/a9d7002df68fca82f27c3495bc2d7de11c77.pdf>
14. Cervantes M ML, Condo Ch R, Mariscal S W. evaluación microbiológica del aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus urograndis*) en *Porphyromonas gingivalis*" (2018) (Guayaquil-Ecuador) [Internet] [Tesis]. [Facultad de Ciencias químicas. Ecuador]: Universidad de Guayaquil; 2018 [citado 26 de julio de 2020]. Disponible en: <https://docplayer.es/122337712-Universidad-de-guayaquil-facultad-de-ciencias-quimicas-modalidad-investigacion-tema.html>

15. Lagos ER. Determinación de la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial *Thymus vulgaris* L. “Tomillo” frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 causante de gingivitis [Internet] [Tesis]. [Tacna, Perú]: Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann; 2012 [citado 26 de julio de 2020]. Disponible en: <http://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/UNJBG/2304>

16. Lindhe J, Karring T, Lang NP. Periodontología clínica e implantología odontológica / Clinical Periodontology and Implant Dentistry [Internet]. 5ta. edición. Vol. Tomo 1. Madrid España: Ed. Médica Panamericana; 2009. 596 p. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=c_Cx0X7_DNkC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false

17. Mora C A, Bravo M E. Diversidad bacteriana asociada a biopelículas anódicas en celdas de combustible microbianas alimentadas con aguas residuales. Colombia. Acta Biológica Colomb [Internet]. 2017 [citado 26 de julio de 2020];22(1):77-84. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/view/55766/60063>

18. Vanaclocha B, Cañigüeral S. Fitoterapia, Vademécum de Prescripción. [Internet]. 5ta. edición. Barcelona- España: El servier; 2019 [citado 26 de julio de 2020]. Disponible en: <https://www.fitoterapia.net/publicaciones/biblioteca/fitoterapia-vademecum-prescripcion.-barcelona-elsevier-2056.html>

19. Castillo G E, Martínez S I. Manual de fitoterapia [Internet]. segunda edición. Barcelona: Elsevier Espana; 2015 [citado 26 de julio de 2020]. 1116 pp. Disponible en: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&scope=site&db=nlebk&db=nlabk&AN=1151775>

20. Ponz S E, Carpio T G, Meo Ch S. Conocimientos prácticos de las plantas medicinales . La medicina tradicional de los Tacana y Machineri| Medicina Intercultural [Internet]. Primera edición. La Paz - Bolivia: Universidad Amazónica de Pando; 2005 [citado 26 de julio de 2020]. Disponible en: <http://medicinaintercultural.org/publicaciones/tipo/conocimientos-pr%C3%A1cticos-de-las-plantas-medicinales>

21. González-Guñez R, Silva-Aguayo G, Urbina-Parra A, Gerding-González M. Aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill Y *Eucalyptus nitens* H. Deane & Maiden (MYRTACEAE) para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky. Chil J Agric Anim Sci [Internet]. 9 de noviembre de 2016 [citado 26 de julio de 2020];32(3):204-16. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0719-38902016000300005

22. Afonso M, Torres S R. Ciencia y Tecnología Ambiental Un Enfoque Integrador. primera edición. Argentina: Argentina y ambiente 2012; 2012. (Libro de trabajos completos del I Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología Ambiental y I Congreso de la Sociedad Argentina de Ciencia y Tecnología Ambiental).

ANEXOS

ANEXO N°1:

Ficha microbiológica de recolección de datos utilizados en nuestra investigación.

Porphyromonas Gingivalis	Aceite esencial de <i>Eucalyptus Globulus</i> Labill								Gel a base de aceite esencial de <i>Eucalyptus Globulus</i> Labill	
	MIC			CMB					CONCENTRACION	VOLUMEN
	VOLUMEN	CONCENTRACION INICIAL	CONCENTRACION FINAL	VOLUMEN	CONCENTRACION	GRADO DE SENSIBILIDAD				
						BAJA SENSIBILIDAD	SENSIBILIDAD MEDIA	SUMAMENTE SENSIBLE		
MUESTRA 1										
MUESTRA 2										
MUESTRA 3										
MUESTRA 4										
MUESTRA 5										
MUESTRA 6										
MUESTRA 7										
MUESTRA 8										
MUESTRA 9										
MUESTRA 10										
MUESTRA 11										
MUESTRA 12										
MUESTRA 13										
MUESTRA 14										
MUESTRA 15										
MUESTRA 16										
MUESTRA 17										
MUESTRA 18										
MUESTRA 19										
MUESTRA 20										
MUESTRA 21										
MUESTRA 22										
MUESTRA 23										
MUESTRA 24										
MUESTRA 25										
MUESTRA 26										
MUESTRA 27										
MUESTRA 28										
MUESTRA 29										
MUESTRA 30										
MUESTRA 31										

ANEXO N°2

SOLICITO IDENTIFICACION DE UNA ESPECIE BOTANICA

Tacna, 28 de diciembre del 2018

Señor:
MSC. MAGNO ROBLES TELLO
Decano de la Facultad de Ciencias Agropecuarias

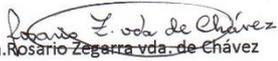
Presente.-

De mi consideración:

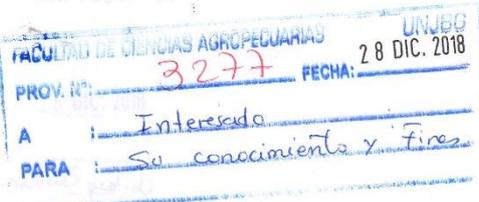
Tengo el agrado de dirigirme a Ud., para manifestarle con relación a la solicitud del Sr Jhener Alexander Araujo Hanco, estudiante de Odontología, sobre la identificación de una muestra vegetal que empleará en su Proyecto de Tesis, le informo a Ud. que se ha procedido a identificar la muestra entregada y debo señalar que se trata de *Eucalyptus globulus* Labill. "Eucalipto"

Sin más que informar al respecto, le saludo cordialmente.

Atentamente,


Dra. Rosario Zegarra vda. de Chávez
Profesora Principal FCAG







2 folios

ANEXO N°3



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

Urb. San José S/N Umacollo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204/205 ☎ + 51 54 382038 ANEXO 1166
 ✉ laboratoriodeensayo@ucsm.edu.pe 🌐 http://www.ucsm.edu.pe 📄 Apldo. 1350
 AREQUIPA - PERU



INFORME DE ENSAYO
N° DE INFORME: ANA16D19.003923

Nombre del Cliente	: Jhener Alexander Araujo Hanco
Dirección del Cliente	: Coop. Gregorio Albarracín Mz D It 16
RUC	: No corresponde
Condición del Muestreado	: Por el cliente
Descripción	: Aceite esencial de eucalipto
Tamaño de muestra	: 5 mL
Fecha de Recepción	: 16/04/2019
Fecha de Inicio del Ensayo	: 16/04/2019
Fecha de Emisión de Informe	: 22/05/2019
Página	: 1 de 2

I. ANALISIS FISICO – QUIMICO:

ANÁLISIS	RESULTADO	
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE METABOLITOS SECUNDARIOS CROMATOGRAFÍA GASEOSA CON DETECCIÓN DE MASAS (DENOMINACION NIST)	Name 3-Pentanol, 3-methyl- 2-Hexanone Cyclopentanol, 1-methyl- .alpha.-Pinene Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)- 1-Decene Eucalyptol Undecane 1-Tridecene Dodecane 3-Heptadecene, (Z)-	
DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE METABOLITOS SECUNDARIOS (%) CROMATOGRAFÍA GASEOSA CON DETECCIÓN DE MASAS, MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN, POR NORMALIZACIÓN INTERNA (ÁREA)	Name 3-Pentanol, 3-methyl- 2-Hexanone Cyclopentanol, 1-methyl- .alpha.-Pinene Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)- 1-Decene Eucalyptol Undecane 1-Tridecene Dodecane 3-Heptadecene, (Z)-	Area% 3,21 3,1 6,04 4,46 8,1 5,81 9,72 5,12 14,7 3,63 36,13



ANEXO N°4

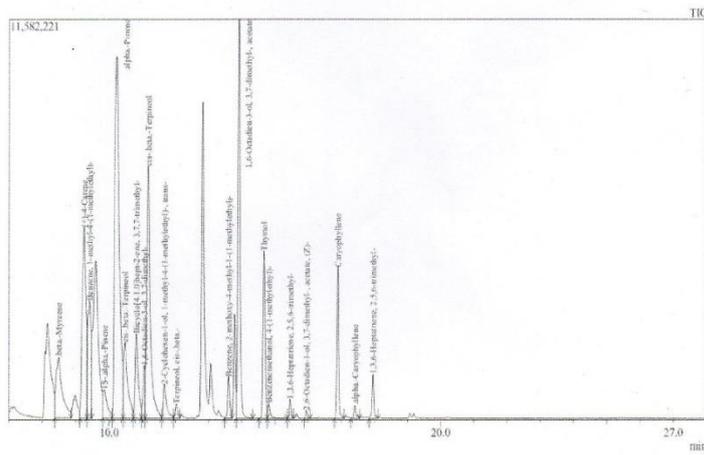


UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS, BIOQUIMICAS Y BIOTECNOLOGICAS
LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD
 Urb. San José S/N Umacollo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204/205 ☎ + 51 54 382038 ANEXO 1166
 laboratorioensayo@ucsm.edu.pe http://www.ucsm.edu.pe Aptdo. 1350
 AREQUIPA - PERU



INFORME DE ENSAYO
N° DE INFORME: ANA16D19.003923

Nombre del Cliente	: Jhener Alexander Araujo Hanco
Dirección del Cliente	: Coop. Gregorio Albarracín Mz D lt 16
RUC	: No corresponde
Condición del Muestreado	: Por el cliente
Descripción	: Aceite esencial de eucalipto
Tamaño de muestra	: 5 mL
Fecha de Recepción	: 16/04/2019
Fecha de Inicio del Ensayo	: 16/04/2019
Fecha de Emisión de Informe	: 22/05/2019
Página	: 2 de 2



Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Mark	Name
1	8.437	8.580	8.670	23454576	5.53	1710873	2.82	12.93	V	Beta-Myrcene
2	8.250	9.125	9.340	42609834	10.60	6590905	8.86	7.82	V	(1S,4S)-Cineole
3	9.414	9.340	9.480	25229544	6.21	3379874	5.49	7.46	V	Benzene, 1-(ethoxy)-4-(1-methyl-1-prop-1-en-1-yl)-
4	9.801	9.810	10.090	7542977	1.78	607410	1.31	8.97	V	1S-Alpha-Fenchene
5	10.221	10.090	10.420	96939424	24.44	10685600	17.60	9.09	V	alpha-Pinene
6	10.478	10.420	10.740	19608281	4.82	2160574	3.52	9.05	V	cis-beta-Terpinol
7	10.820	10.740	10.980	15582975	3.83	2428418	3.95	6.42	V	Bicyclo[4.1.0]hept-2-ene, 3,7,7-trimethyl-
8	11.067	10.980	11.090	6504384	1.60	1181710	2.47	4.28	V	1,6-Octadiene-3-ol, 3,7-dimethyl-
9	11.178	11.090	11.585	54323392	13.37	7281563	11.84	7.46	V	cis-beta-Terpinol
10	11.667	11.585	11.945	6623612	1.63	983714	1.60	6.74	V	2,4-Cyclohexadiene-1-ol, 1-methyl-4-methyl-
11	12.625	11.945	12.155	2347075	0.58	407503	0.66	5.76	V	Terpinol, cis-beta-
12	13.091	13.480	13.795	5128412	1.26	1195313	1.94	4.29	V	Benzene, 2-methoxy-4-methyl-
13	13.904	13.835	14.330	50889957	12.52	11546188	18.77	4.41	SV	1,6-Octadiene-3-ol, 3,7-dimethyl-
14	14.661	14.510	14.770	21703788	5.54	4841557	7.87	4.48	V	Thymol
15	14.809	14.770	15.375	2351480	0.58	436681	0.71	5.39	SV	Benzenemethanol, 4-(1-ethoxy-1-prop-1-en-1-yl)-
16	13.451	15.375	15.555	1982074	0.49	301321	0.91	3.54	V	1,3,6-Heptatriene, 2,5,6-trimethyl-
17	15.846	15.875	16.065	794711	0.20	237770	0.39	3.34	V	2,6-Octadiene-3-ol, 3,7-dimethyl-
18	16.893	16.795	17.085	14063935	3.08	4722077	7.11	3.42	V	Caryophyllene
19	17.409	17.290	17.570	1589770	0.39	286222	0.60	4.34	V	alpha-Caryophyllene
20	17.955	17.840	18.110	4632550	1.14	1272568	2.08	3.63	V	1,3,6-Heptatriene, 2,5,6-trimethyl-
				406399057	100.00	61510244	100.00			

OBSERVACIONES:

- Este documento al ser emitido sin el símbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INACAL-DA.
- Los resultados emitidos en el presente informe se relacionan únicamente a las muestras ensayadas y no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Este documento no debe ser reproducido, sin autorización escrita del Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad.

Ramírez
Q.F. Ricardo A. Abril Ramírez
 CQFPA 00824
 ESPECIALISTA EN CONTROL DE CALIDAD L.E.C.C.





Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Porphyromonas gingivalis Catalog Number: 0912 Lot Number: 912-67** Reference Number: ATCC® 33277™* Purity: Pure Passage from Reference: 2	Expiration Date: 2020/5/31 Release Information: Quality Control Technologist: Carol J Stanoch Release Date: 2018/7/16
---	--

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

ID System: MALDI-TOF (1)
 See attached ID System results document.

Amanda Kuperus
 Quality Control Manager
 AUTHORIZED SIGNATURE

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

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

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



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

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



ANEXO N°6

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 - 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 - 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which the genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Sample Name: Porphyromonas gingivalis
 Sample Description: 0912
 Sample ID: 912-67
 Sample Creation Date/Time: 2018-07-16T13:29:58.878 cs
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
H3 (+++)(A)	912-67	Porphyromonas gingivalis	2.21

Comments:

n/a

ANEXO N°7



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

Escuela Académico Profesional de: Biología-Microbiología y Física Aplicada

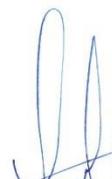


CONSTANCIA

Se hace constar que el Bachiller de la Escuela de Odontología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Privada de Tacna Señor Jhener Alexander Araujo Hanco con código de matrícula N° 2012-042478 y con documento de Identidad N° 70659734 realizó la parte experimental de su tesis titulada "EFECTO ANTIBACTERIANO DE UN GEL A BASE DE ACEITE ESENCIAL DE *Eucalyptus globulus Labill* FRENTE A *Porphyromonas gingivalis*. ESTUDIO *IN VITRO*, TACNA 2019. Con fecha de abril a junio del 2019.

La presente se extiende a petición del interesado para los fines que el estime a los quince días del mes de noviembre de 2019.

Atentamente


Biólogo – Microbiólogo

Especialista del laboratorio de Microbiología

Edwin Denis Obando Velarde
Edwin Denis Obando Velarde
BIÓLOGO - MICROBIÓLOGO



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

ANEXO N°8: Galería de fotografías del estudio



Figura 7: Recolección de las hojas de *Eucalyptus globulus* Labill de la región de Tarata, posterior almacenaje en papel kraft y guardado en un cuarto oscuro



Figura 8: Recolección de materiales e instrumentales a utilizar para nuestra investigación.



Figura 9: Método de destilación por arrastre de vapor para *Eucalyptus globulus* Labill



Figura 10: Recolección y presentación del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill



Figura 11: Recolección , medición y peso por cantidad de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill



Figura 12: Preparación de medios de cultivo



Figura 13: Activación de las cepas microbianas de *Porphyromonas gingivalis*.



Figura 14: Cultivo por anaerobiosis y uso de jarra de anaerobiosis



Figura 15: Cultivo y activación de las cepas microbianas de *Porphyromonas gingivalis*.



Figura 16: Se activó las cepas de *Porphyromonas gingivalis* una vez cada 24 horas para ser utilizada en su etapa de maduración cada día.



Figura 17: Cultivo y activación de las cepas microbianas de *Porphyromonas gingivalis* frente al aceite esencial de eucalipto.

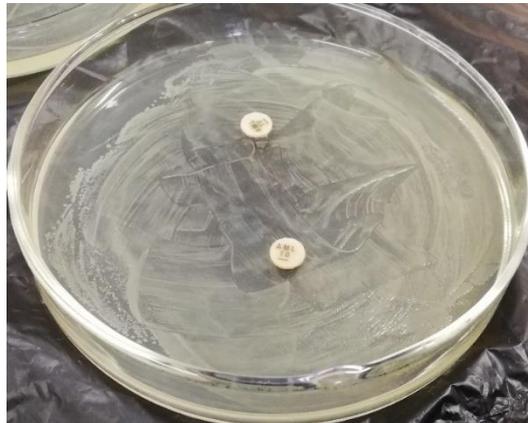


Figura 18: Los halos representados de la sensibilidad de la *Porphyromonas gingivalis* frente al aceite esencial de eucalipto fueron mínimos en la primera prueba así que para hallar el MIC se necesita una mayor concentración.

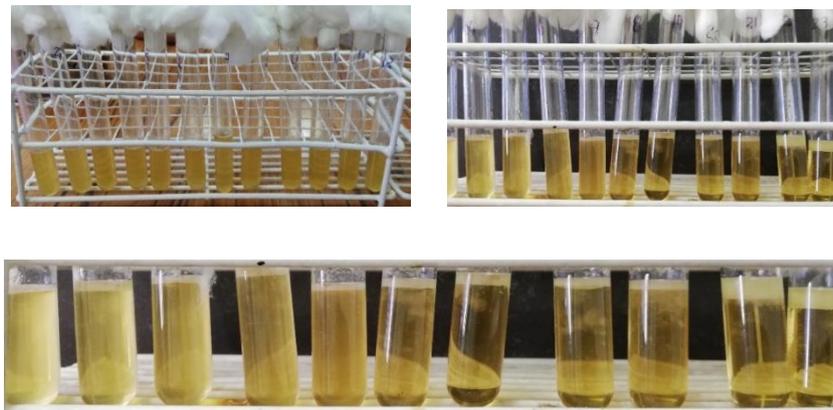


Figura 19: Concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de eucalipto frente a cepas bacterianas *Porphyromonas gingivalis*.

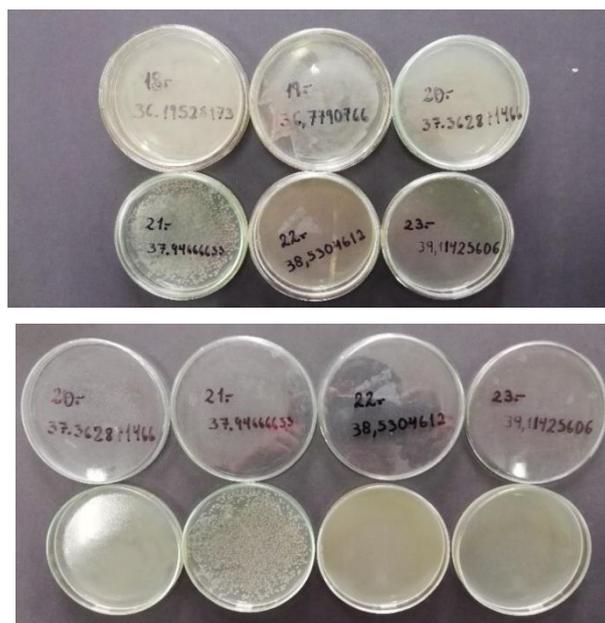


Figura 20: Unidades formadoras de colonias representativas de la prueba de CMB



Figura 21: Gel a base de aceite esencial de eucalipto elaborado a partir del CMB

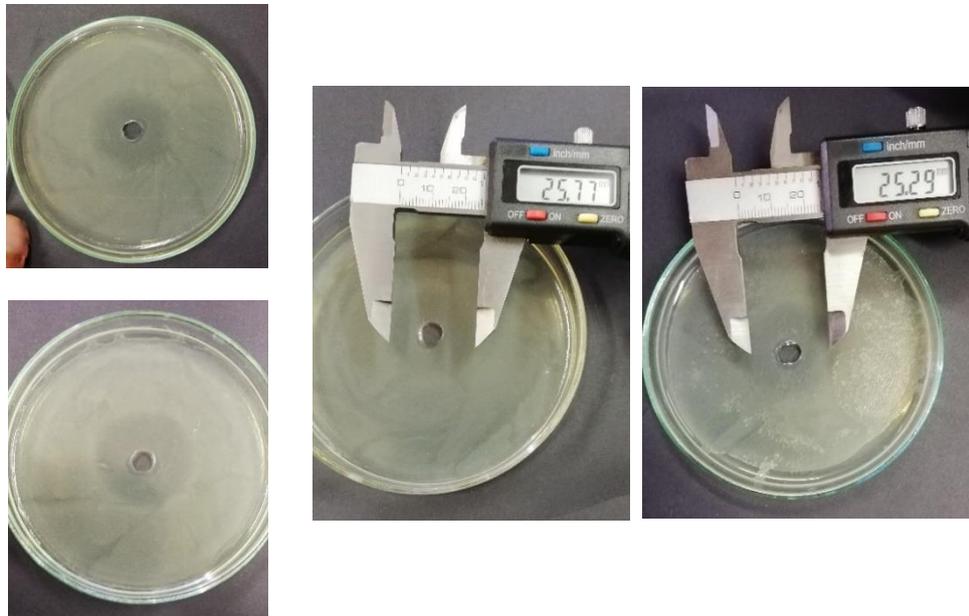


Figura 22: Efecto inhibitorio del gel a base de aceite esencial de eucalipto colocado a la concentración