

UNIVERSIDAD NACIONAL “HERMILIO VALDIZAN”

FACULTAD DE MEDICINA

ESCUELA ACADEMICA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA



**EFFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE *PELARGONIUM X HORTORUM* L.H. Bailey
SOBRE CEPAS DE *PORPHYROMONAS GINGIVALIS*.**

TESISTAS:

Bach. Carlos Diego, BELSUZARRI VICTORIO

Bach. David Waldo, VALDERRAMA CASTILLO

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
CIRUJANO DENTISTA**

HUÁNUCO - PERÚ

2015

**EFFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE *PELARGONIUM X HORTORUM* L.H. Bailey
SOBRE CEPAS DE *PORPHYROMONAS GINGIVALIS*.**

DEDICATORIA (i)

De Carlos: Con todo mi cariño y mi amor para las personas que hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, quienes me apoyaron todo el tiempo, por motivarme y darme la mano cuando sentía que el camino se terminaba, a ustedes por siempre mi corazón y mi agradecimiento mis padres.

A mis maestros que en este andar por la vida, influyeron con sus lecciones y experiencias por todo lo que me enseñaron para llegar a ser un buen profesional, que siempre depositaron su esperanza en mí, en formarme como una persona de bien y preparada para los retos que pone la vida, a todos y cada uno de ellos les dedico cada una de estas páginas de mi tesis.

De David: Con mucho cariño y respeto a Dios; a mis maravillosos padres, Teresa y Waldo; a mis hermanas: Mayra la que me enseñó a creer y confiar en lo que hago, Lesly y Cindy mis dos ángeles, a mi amigo José por brindarme un espacio en su hogar y a todas las personas que en algún momento me dieron la mano o una palabra de aliento para confiar en lo que hago y ver que con voluntad y fe todo es posible.

AGRADECIMIENTO (ii)

Nuestro más estimado saludo; como autores de la presente investigación estamos muy agradecidos, con la **Lic. Bertha Jurado Teixeira**, catedrática de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM, sabemos que tiene muchos estudiantes que dependen de usted, y realmente apreciamos que se tomara el tiempo para darnos tanta atención; al **Ing. Jesús Silva Alarcón**, jefe del Herbario de Plantas Medicinales del INS, gracias por permitirnos el ingreso a las instalaciones de esta institución.

También debemos expresar nuestra gratitud por su valioso aporte para mejorar y actualizar la presente investigación:

Biol. Elfer Valdivia Paz Soldan

Catedrático de la Universidad Científica del Sur.

Periodoncista Americo Munayco Magallanes

Catedrático de la USMP.

Mg. Jubert Torres Chavez

Catedrático de la Universidad Nacional Hermilio Valdizan.

Asimismo, expresamos nuestra gratitud a la cirujano dentista **Tania Santos Tucto** por su tiempo y permitir que finalmente culminemos la presente tesis. GRACIAS.

RESUMEN (iii)

La presente investigación se realizó con el objetivo de evaluar la efectividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* L. H. Bailey en diferentes concentraciones sobre cepas de *Porphyromonas Gingivalis* ATCC 33277 y compararlos con el gluconato de Clorhexidina al 0,12%. La efectividad antibacteriana se determinó usando el método de difusión en pozo, se emplearon 25 cultivos de *Porphyromonas Gingivalis* ATCC 33277, las cepas se incubaron en anaerobiosis a 37° por 72 horas. Para la dilución del extracto se empleó Dimetilsulfóxido (DMSO), que también fue usado como control negativo junto con el agua destilada, luego cada una de las diluciones se comparó con el gluconato de Clorhexidina al 0,12%. Los halos de inhibición se midieron a las 72 horas con una regla milimetrada y fueron anotados en una ficha de registro. El análisis fitoquímico preliminar se realizó mediante el ensayo a la gota. Los datos obtenidos se sometieron a análisis estadísticos de *t de Student* y ANOVA. Los resultados mostraron que el promedio del diámetro del halo de inhibición del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* a 6,25 mg/ml es de 3,68 mm; a 12,5 mg/ml es de 5,50 mm; a 25 mg/ml es de 7,18 mm y a 50 mg/ml es 11,44 mm y el gluconato de Clorhexidina al 0,12% fue 10,32 mm. En conclusión el extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* a 50mg/ ml presentó mayor efectividad antibacteriana sobre cepas de *Porphyromonas Gingivalis*, incluso mayor efectividad que el gluconato de Clorhexidina al 0,12%.

Palabras clave: *Pelargonium x hortorum* L. H. Bailey, extracto etanólico, efectividad antibacteriana, *Porphyromonas gingivalis*.

SUMMARY

This research was conducted to evaluate the in vitro antibacterial effectiveness of the ethanol extract of *Pelargonium x hortorum* LH Bailey in different concentrations on *Porphyromonas gingivalis* ATCC strains 33277 and compared with chlorhexidine gluconate 0.12%. The antibacterial effectiveness was determined using the well diffusion method, 25 cultures of *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 was used, the strains were incubated anaerobically at 37 ° for 72 hours. For the dilution of the extract employment dimethylsulfoxide (DMSO), which also was used as a negative control with distilled water, then each of the dilutions was compared with chlorhexidine gluconate 0.12%. The halos of inhibition were measured after 72 hours with a millimeter ruler and were recorded on a registration form. Preliminary phytochemical analysis was performed using the test to gout. The data obtained were subjected to statistical analysis, Student t test and ANOVA. The results showed that the average diameter of the inhibition halo ethanolic extract of *Pelargonium x hortorum* to 6.25 mg / ml is 3.68 mm; 12.5 mg / ml is 5.50 mm; 25 mg / ml is 7.18 mm and 50 mg / ml is 11.44 mm and chlorhexidine gluconate 0.12% was 10.32 mm. In conclusion the ethanol extract of *Pelargonium x hortorum* to 50mg / ml has greater antibacterial effectiveness on strains of *Porphyromonas gingivalis*, even greater than the chlorhexidine gluconate 0.12%.

Key words: *Pelargonium x hortorum* LH Bailey, ethanol extract, antibacterial effectiveness, *Porphyromonas gingivalis*.

ÍNDICE

	PÁGINA
DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTO.....	ii
RESUMEN.....	iii
INDICE.....	7
INTRODUCCIÓN.....	10

CAPITULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Origen y definición del problema.....	13
1.2 Formulación del problema.....	16
1.3 Objetivos: Generales y Específicos.....	16
1.4 Justificación.....	17
1.5 Limitaciones.....	20

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de estudios realizados.....	21
2.2 Bases teóricas y científicas.....	28
2.2.1 Geranio.....	28
2.2.1.1 Historia.....	28
2.2.1.2 Clasificación y sistemática.....	31
2.2.1.3 Descripción botánica.....	34
2.2.1.4 Origen y distribución geográfica.....	39
2.2.1.5 Propiedades fitoquímicas.....	40
2.2.1.6 Actividad farmacológica.....	43
Actividad antibacteriana.....	43

2.2.1.7 Usos tradicionales.....	46
2.2.1.8 Toxicidad.....	48
2.2.1.9 Uso en Odontología.....	48
2.2.2 Enfermedad periodontal.....	49
2.2.2.1 Etiopatogenia.....	50
2.2.2.2 Biofilm de la placa sub gingival.....	54
2.2.3 Porphyromonas Gingivalis.....	59
2.2.3.1 Taxonomía.....	60
2.2.3.2 Nutrición.....	61
2.2.3.3 Morfología y estructura.....	62
2.2.3.4 Factores de virulencia.....	62
Capsula.....	62
Endotoxina (LPS).....	63
Vesículas de membrana externa.....	64
Hemaglutinas.....	64
Fimbrias.....	64
Proteínas cisteinproteasas.....	65
Proteínas no cisteinproteasas.....	66
Inductor de metaloproteinasas de la matriz.....	66
2.2.3.5 Fisiopatología.....	67
2.2.4 Clorhexidina.....	68
2.2.4.1 Historia.....	68
2.2.4.2 Estructura y características químicas.....	68
2.2.4.3 Mecanismo de acción.....	69
2.2.4.4 Farmacocinetica.....	70
2.2.4.5 Concentraciones.....	71
2.2.4.6 Medios de presentación y formas comerciales.....	71
2.2.4.7 Indicaciones.....	72
2.2.4.8 Efectos secundarios.....	72

2.3	Definición de términos básicos.....	73
2.4	Hipótesis.....	74
2.5	Variables.....	74
2.6	Operacionalización de Variables.....	75

CAPITULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1	Nivel y tipo de investigación.....	76
3.2	Diseño de la investigación.....	76
3.3	Población y muestra.....	78
3.4	Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	79
3.5	Instrumento de recolección de datos.....	86
3.5.1	Validación de la ficha de recolección de datos.....	87
3.6	Técnicas de procesamientos, análisis de datos.....	87

CAPITULO IV

RESULTADOS

IV	Presentación de resultados.....	91
----	---------------------------------	----

CAPITULO V

DISCUSIÓN

V	DISCUSIÓN.....	112
	CONCLUSIONES.....	117
	RECOMENDACIONES.....	118
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	119
	ANEXOS.....	134

INTRODUCCIÓN

Se sabe que desde la prehistoria el hombre ha utilizado uno de los recursos más valiosos que nos brinda nuestra naturaleza, estas son las plantas medicinales. El hombre ha tenido la capacidad de descubrir, observar y experimentar con la diversidad de plantas que pusieron en su camino a través de la evolución; a veces acertó otras veces se intoxicó, pero todo éxito o fracaso vivido en busca de la solución a alguna patología, malestar o dolor fue valioso para transformar la medicina.

Las plantas no solo se utilizan en la medicina también se aplican a la industria alimentaria, la cosmetología, entre otros, esto es gracias a que muchas de ellas expiden olores y esencias agradables al ser humano.

El Perú es un país que cuenta con una gran diversidad de plantas, lo cual nos hace uno de los 12 países más ricos y megadiversos del planeta; posee alrededor del 10% de especies de la flora mundial, (25 000 especies) de las cuales, 30% son endémicas; ocupa el primer lugar en número de especies de plantas con propiedades medicinales utilizadas por la población (4 400 especies).¹

Es conocido que muchas plantas de la flora medicinal del medio peruano y de otros países, poseen efecto antibacteriano y antiinflamatorio en virtud a que la mayoría contiene flavonoides y triterpenoides, taninos, entre otros componentes químicos,² por tal motivo en los últimos años los estudiantes avocados al campo de la medicina de las universidades de nuestro país han puesto énfasis en realizar investigaciones de las propiedades curativas de las plantas; sus propiedades antiinflamatorias,

analgésicas, antimicóticas, antibacterianas. Los odontólogos no son ajenos a este tema, ya que en el campo de la odontología diversas facultades han realizado trabajos de investigación sobre plantas medicinales; entre estas se menciona al aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) que demostró actividad antibacteriana frente a bacterias orales. El enjuague bucal de *Aloè vera* resultó ser un agente inflamatorio gingival,³ y por último, el extracto acuoso de *Pelargonium peltatum* presentó actividad antibacteriana frente a bacterias cariogénicas.⁴ De este modo algunas plantas medicinales en el área de la salud dental están siendo utilizadas en diversas formulaciones farmacéuticas, así tenemos: los enjuagues bucales, colutorios, soluciones tópicas, pasta dental entre otros. Los beneficios que ofrecen a la población son mejores tanto en el aspecto terapéutico como económico.³

Como muchas otras plantas el Geranio es una planta que cuenta con buenas propiedades medicinales; el Geranio se clasifica dentro de la familia *Geraniaceae* Juss., esta familia incluye entre cinco y once géneros a los que pertenecen unas 750 especies, los géneros más conocidos son *Erodium* y *Geranium* al nivel de plantas silvestres y *Pelargonium* en cuanto a plantas de jardines, se distribuyen por todo el mundo encontrándose desde zonas frías hasta zonas tropicales.⁵ Los constituyentes mayoritarios del aceite de geranio son citronelol y geraniol,⁶ a los cuales se podría atribuir sus propiedades antibacterianas, antifúngicas, además de ser anti bronquial, antihemorrágico, cicatrizante,^{4, 6, 7} entre otros.

Sabiendo que somos un país que necesita alternativas más económicas para mejorar la salud bucal y por encontrarnos inmersos en una flora maravillosa, este estudio

tuvo como objetivo determinar la efectividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey (geranio común) sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*, ya que estudios de esta naturaleza son los pilares para futuras investigaciones con esta planta como posible alternativa para el tratamiento de la enfermedad periodontal, para ello se necesitan otras metodologías y confirmar esta posibilidad.

CAPITULO I.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

1.1 Origen y definición del problema.

La enfermedad periodontal es una de las enfermedades orales más prevalentes en el mundo⁸ y también es la causa primaria de pérdida de dientes permanentes en el hombre.^{8, 9} El Perú no es ajeno a este mal, estudios realizados por el Ministerio de Salud demuestran que un 85 a 90% de la población peruana la padece.⁹ En el caso de la enfermedad periodontal, no se ha podido lograr hasta la fecha un agente específico, como es el caso del flúor en la caries dental, capaz de prevenir las periodontopatías,^{10, 11} solo se cuenta hasta el momento con la eliminación de los factores locales mediante la fisioterapia bucal y el uso de agentes antibacterianos.^{12, 13} Un agente antibacteriano muy utilizado por los odontólogos es el Gluconato de Clorhexidina, que por su alto costo se hace inaccesible para la mayoría de las personas, además de poseer efectos colaterales como la tinción de dientes y partes blandas, alteración del sentido del gusto, sensación de quemazón, sequedad de tejidos blandos, lesiones descamativas y ulcerosas de la mucosa gingival.¹⁴

De acuerdo a los problemas mencionados las plantas medicinales se convierten en una alternativa curativa de menor costo. Para ello, es necesario que aprendamos a investigar los recursos naturales, pero con los métodos y requerimientos técnicos que la ciencia actual exige.³ Estos conocimientos,

debidamente sistematizados, deben contribuir a resolver, en parte, los problemas de salud de la población menos favorecida y más alejada de la modernidad, cuyas posibilidades de curarse son actualmente limitadas por el alto costo de los fármacos modernos.¹⁵

Según nuestra realidad se sabe que la población usó plantas tradicionales para tratar de forma casera algún problema bucal, sin embargo muchas de estas plantas no cuentan con estudios científicos sobre sus propiedades o toxicidad, lo cual no garantiza de manera ética y científica su actividad terapéutica, convirtiendo esto en una situación problemática. Un aspecto importante, para que se empleen de forma racional las plantas medicinales, está dado por la validación basada en investigaciones que demuestren o contribuyan a probar las acciones farmacológicas, la seguridad y la calidad que son, a criterio de la Organización Mundial de la Salud (OMS), los 3 pilares para el empleo de las plantas medicinales y de la medicina tradicional en los sistemas de salud.¹⁶

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) en los últimos años un 80% de la población mundial ha recurrido a las plantas medicinales para tratar diversas enfermedades o afecciones.¹⁷ El Perú ocupa el primer lugar en número de especies de plantas con propiedades medicinales utilizadas por la población,¹ por lo tanto se deberían realizar estudios de investigación que garanticen su seguridad y eficacia.

En la medicina tradicional especies a base de hierbas de *Pelargonium* (geranio) se han usado para problemas intestinales, heridas, enfermedades respiratorias, resfriado,⁷ dolor de muela,⁴ inflamación de laringe, faringe; causada por patógenos bacterianos y fúngicos.⁶ La actividad antimicrobiana de aceite esencial *Pelargonium* se ensayó frente a bacterias Gram-negativas, bacterias Gram-positivas y hongos (*Candida albicans*).⁷ Se determinó que el extracto acuoso de *pelargonium peltatum* tiene capacidad inhibitoria sobre *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis* y *streptococos sanguis*.¹⁸

Por lo expuesto anteriormente se demuestra la eficacia del *Pelargonium* sobre numerosas especies bacterianas, sin embargo aún no se han realizado investigaciones que demuestren su efectividad sobre bacterias periodontopatógenas. A pesar que hay más de 300 especies que se aíslan e identifican en las bolsas periodontales, solo un pequeño porcentaje de ellas se pueden considerar como etiológicamente importantes;¹⁹ dos especies bacterianas, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* y *Porphyromonas gingivalis*, consideradas como patógenos periodontales con íntima asociación etiológica.¹⁹ Por lo tanto consideramos importante y oportuno realizar un estudio “*in vitro*” de la efectividad antibacteriana del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* (geranio común) sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis* ya que no existen investigaciones previas de esta planta sobre dicha cepa bacteriana.

1.2 Formulación del problema.

En vista que no se realizaron estudios en odontología del *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis* formulamos la siguiente interrogante:

¿Cuál será la efectividad antibacteriana del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey en diferentes concentraciones sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*?

1.3 Objetivos.

1.3.1 Objetivo General

Evaluar la efectividad antibacteriana del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey en diferentes concentraciones sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.

1.3.2 Objetivos Especificos

- Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey en diferentes concentraciones y las sustancias control sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.
- Comparar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey en diferentes concentraciones sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.
- Comparar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey a la concentración de 6,25 mg/ml y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.

- Comparar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey a la concentración de 12,5 mg/ml y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.
- Comparar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey a la concentración de 25 mg/ml y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.
- Comparar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey a la concentración de 50 mg/ml y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.
- Comparar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey en diferentes concentraciones y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.

1.4 Justificación.

La enfermedad periodontal es muy frecuente en la práctica profesional, el tratamiento coadyuvante al desbridamiento mecánico es el uso de antimicrobianos, los cuales han demostrados mediante las investigaciones su acción frente a diversos microorganismos causantes de enfermedades en cavidad oral. Sin embargo son también muy conocidos los efectos adversos a largo plazo que se pueden originar por el uso indiscriminado de los mismos.

La medicina natural aunque ha sido utilizada como tratamiento médico general desde tiempos inmemoriales, es muy poco conocida como posible

aporte al campo odontológico y debido a que, en nuestro país hay un gran porcentaje de deficiencia en la salud oral, se realizó este trabajo de investigación como primer paso para que posteriormente se obtenga una nueva opción de tratamiento coadyuvante para combatir la enfermedad periodontal (que es una de las patologías orales más prevalentes en nuestro país)²⁰, es por ello que se justifica realizar el estudio al Geranio Común (*Pelargonium x Hortorum*) como una alternativa a los tratamientos farmacológicos existentes por las múltiples propiedades que presenta.

- **Relevancia Social:** El presente estudio comprueba la efectividad antibacteriana del *Pelargonium x Hortorum* (geranio común) que es una planta que esta distribuida ampliamente en todo nuestro país y por ello, representa una alternativa más, para la prevención de enfermedades bucales, que tendrá un valor económico reducido por su bajo costo y fácil obtención, esto ayudaría a las clases más necesitadas y los pacientes estarán más familiarizados con el uso de la planta.
- **Relevancia Clínica:** Teniendo el conocimiento de la efectividad antibacteriana que tiene el extracto etanólico del geranio común (*Pelargonium x Hortorum*) sobre el crecimiento de cepas de *Porphyromonas Gingivalis* (bacterias anaerobias frecuentes en pacientes con periodontitis agresiva²¹ y crónica),²² esta investigación abre paso a que posteriormente mediante aplicación de otros estudios, el *Pelargonium x hortorum* pueda aplicarse en la práctica clínica, con ello se lograría

disminuir el uso de soluciones químicas y proponer en el futuro una alternativa terapéutica natural. En síntesis este estudio sería el primer paso para la posterior elaboración de un producto derivado de esta planta, dirigido al control de la enfermedad periodontal como alternativa a los tratamientos existentes para los pacientes que acudan a la clínica con dichas patologías.

- **Relevancia Teórica:** Se justifica desde el punto de vista teórico ya que colabora con la comunidad científica a ampliar el conocimiento en relación al uso de plantas medicinales en el campo odontológico (que han sido poco estudiadas), por lo que consideramos importante nuestra investigación en busca de una nueva y a la vez buena alternativa para encontrar compuestos naturales de utilidad en nuestra área; por lo que la continuidad de este tipo de investigaciones son esenciales para el descubrimiento de nuevas alternativas para los tratamientos ya existentes y que dichos descubrimientos estén sustentados de manera científica.

Así mismo los resultados obtenidos nos llegan a generalizar la información obtenida para que se pueda usar el extracto etanólico del *Pelargonium x Hortorum* en el tratamiento periodontal e incluso el estudio colabora a la comunidad científica y los conceptos obtenidos a fomentar nuevas investigaciones y futuros estudios para que se pueda adoptar nuevos y mejores resultados referente a este tema.

- **Novedoso y original:** Se justifica la realización del trabajo de investigación debido a que en la actualidad no hay estudios en nuestra universidad (ni teóricos ni comparativos) publicados que se refieran a las propiedades del Geranio Común (*Pelargonium x Hortorum*) y nos puedan anticipar sobre su actividad antibacteriana sobre cepas de *Porphyromonas Gingivalis*.

1.5 Limitaciones.

- Dificultad para conseguir las cepas bacterianas.
- Laboratorio con los requerimientos necesarios para el cultivo de bacterias anaerobias.
- Limitación económica por el alto costo de este tipo de investigaciones.
- Escasos antecedentes científicos sobre estudios de la actividad bacteriana del *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.

CAPITULO II.

MARCO TEORICO

2.1 Antecedentes de estudios realizados:

Internacionales:

Gâlea et al (2014). Romania. Analizaron “*in vitro*” La actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Pelargonium roseum*. El objetivo de este estudio fue la evaluación de la actividad antibacteriana y antifúngica del aceite de *Pelargonium roseum* contra diferentes géneros de bacterias y hongos, y compararlos con el efecto de ciertas sustancias antibacterianas utilizadas con frecuencia sobre el crecimiento bacteriano. Se analizaron tres muestras diferentes de aceites esenciales correspondientes a tres años de cultivo diferentes (S1, S2, S3) y se comparó con cuatro muestras comerciales de aceites esenciales con alto grado de pureza recibidas de distintas zonas climáticas (S4 - de China, S5 - Reunion, S6 - Francia, S7 - Egipto), Los microorganismos utilizados con el fin de probar la actividad antimicrobiana del aceite esencial fueron: bacterias Gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus mirabilis* ATCC 29906, *Escherichia coli* ATCC 25992), bacterias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 19433), hongos (*Candida albicans* ATC 10231). Se utilizaron placas de agar sangre para los cultivos de las bacterias, mientras que agar Sabouraud se utilizó para el cultivo de los hongos. Los resultados mostraron zonas de inhibición, los aceites esenciales estudiados

fueron activos contra todas las bacterias estudiadas. En el caso de *Candida albicans*, se observó la inhibición completa del desarrollo del hongo. En los casos de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* se observó una inhibición comparable a la obtenida por el uso de una sustancia antimicrobiana adecuada. Se concluyó que los aceites volátiles exhiben considerables efectos inhibidores contra todos los organismos sometidos a prueba, en algunos casos comparables con los de los antibióticos de referencia. No hubo diferencias considerables entre las actividades antimicrobianas del aceite obtenido por destilación y aceites *Pelargonium* disponibles comercialmente.⁷

Kabera et al (2013). Francia. Realizaron un estudio sobre la composición química y el efecto antimicrobiano “*in vitro*” del aceite esencial de *Pelargonium graveolens* (Geranio rosat) crecido en Butare (Ruanda). El objetivo de este estudio fue determinar la composición química y el efecto antibacteriano y antifúngico del aceite esencial de *Pelargonium graveolens* sobre diferentes cepas bacterianas Gram positivas y Gram negativas y el hongo *Candida albicans*. El aceite esencial obtenido por hidrodestilación de las hojas de *Pelargonium graveolens* se analizó por GC / FID y métodos GC / MS. Los componentes individuales del aceite fueron identificados por sus espectros de masas que se compararon con trabajos publicados anteriormente. Se han identificado alrededor de sesenta y un compuestos, entre los cuales los principales componentes eran geraniol (36. 6%), citronelol (15,9%), linalol

(11,0%), isomentona (6,1%) y eudesmol 10-epi-gamma (4,6%). Las cepas microbianas fueron *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Salmonella B*, *Salmonella D*, *Shigella flexnerie*, *Shigella sonnei*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*. Ellos fueron recogidos desde el laboratorio del Hospital Clínico Universitario de Butare (CACHO), se multiplicaron y se utilizaron en esta investigación. El cultivo se realizó por el método de estrías por los platos y se mantuvo herméticamente cerrado en un horno de secado a 37 °C durante 24 horas, a excepción de *C. albicans* que se mantuvo durante cinco días. El *Enterococcus* se cultivó en un medio de SS-agar, la *Candida albicans* se puso en el medio de agar Sabouraud, mientras que *Serratia marcescens*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* fueron cultivadas en medio de Muller-Hinton. Los resultados revelaron que los aceites esenciales de *P. graveolens* exhiben una actividad antibacteriana contra *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Salmonella* serotipos B y D, *Shigella flexneri* y *Shigella sonnei* incluso a concentraciones pequeñas (1µl / ml). Por el contrario, esta investigación mostró que el aceite esencial de *P. graveolens* no tiene ningún efecto sobre el hongo *Candida albicans*, y las bacterias tales como *Staphylococcus aureus*, *Serratia marcescens* y *Pseudomonas aeruginosa*. Ellos permanecen resistentes a incluso concentraciones altas de su aceite esencial (20 ul / ml). Se concluyó que el aceite esencial de geranio (*Pelargonium graveolens*) es rica en geraniol, que

hace que sea una parte de la familia de los fenoles que son conocidos por su interesante propiedad antibacteriana.²³

Bigos et al (2012). Polonia. Realizaron un estudio “*in vitro*”. El objetivo de este trabajo fue investigar la composición química y las propiedades antibacterianas obtenidas a partir del aceite esencial de geranio *Pelargonium graveolens* (familia Geraniaceae), contra una cepa de *S. aureus* estándar ATCC 433000 y setenta cepas clínicas de *S. aureus*. Se utilizó el método de difusión en agar para la evaluación de la inhibición de crecimiento bacteriano a diversas concentraciones del aceite de geranio. Las pruebas de susceptibilidad de las cepas clínicas a los antibióticos se llevó a cabo utilizando los métodos de difusión en disco y E-test. Los resultados del experimento mostraron que el aceite de *P. graveolens* tiene una fuerte actividad antibacteriana contra todas las cepas clínicas aisladas de *S. aureus* incluyendo cepas resistentes a múltiples fármacos, cepas de MRSA y cepas de exhibición MIC MLSB-positivos mostraron CIM de 0,25 a 2,50 l / ml. El análisis del aceite esencial probado derivado de *Pelargonium graveolens* Ait. reveló que los componentes principales fueron el citronelol (26,7%) y geraniol (13,4%) entre los sesenta y siete constituyentes identificados, otros compuestos que prevalecen son el nerol (8,7%), formiato de citronelilo (7,1%), isomentona (6,3%), linalol (5,2%), y 10-epi- γ eudesmol (4,4%). Se concluyó que el aceite de geranio (*Pelargonium graveolens*) era activo en concentraciones de 0,25-2,50 ul / ml frente a estafilococos resistentes a

múltiples fármacos. No se encontró correlación entre los valores de CIM en el aceite de geranio para inhibir el crecimiento de cepas de *S. aureus* y los valores de CIM para cefoxitina.⁶

Baculima et al (2011). Cuenca-Ecuador. Realizaron un estudio “*in vitro*” del efecto Antibacteriano y antimicótico del *Pelargonium Zonale* en Patología Bucofaríngea. El objetivo del estudio fue orientado a determinar el posible efecto antibacteriano y antimicótico del *Pelargonium zonale* en patología bucofaríngea, frente a bacterias grampositivas *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*), *Streptococcus pyogenes* (*S. pyogenes*) y levadura *Candida albicans* (*C. albicans*) causantes de este tipo de patología prevalente en la población. Se realizó el análisis fitoquímico y actividad bacteriana con el extracto alcohólico de las hojas de *Pelargonium zonale*. El estudio químico cualitativo de dicho extracto sugirió la presencia de compuestos fenólicos, taninos, flavonoides y terpenos, mientras que quinonas y leucoantocianidinas dieron negativo. Para el ensayo de toxicidad y establecer la dosis letal media (DL50), se utilizó el método de Artemia Salina, los datos obtenidos se evaluaron con la prueba de Chi cuadrado (χ^2). Para determinar su posible efecto antibacteriano y antimicótico, se empleó el Método de difusión de discos – Método de Kirby – Bauer y se comparó con controles de antibióticos y antifúngicos de elección médica en dicha patología. Los resultados muestran que Las distintas dosis empleadas de *P .zonale* en *S. aureus* en comparación con la DL50 obtenida; resultan tóxicas, sin embargo

no presentan un efecto antibacteriano significativo (mayor o semejante) a los antibióticos empleados como control y la acción antibacteriana del *P. zonari* está influenciada por compuestos especialmente por los taninos que por su posible acción antiséptica inhibirían el crecimiento bacteriano. Se concluye que se trata de una planta tóxica, por lo cual su uso se recomienda para vía externa. No se muestra un efecto antibacteriano y antimicótico similar a los controles empleados.⁴

Andrade et al. (2011). Brasil. Realizaron un estudio “*in vitro*” de la actividad antimicrobiana y composición química del aceite esencial de *Pelargonium Odoratissimum*. El objetivo de este estudio fue analizar el aceite esencial de *P. odoratissimum* y evaluar su efecto biológico sobre hongos toxigénicos y bacterias patógenas. Evaluaron “*in vitro*” la composición química y la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Pelargonium Odoratissimum* (L.) L'Hér., Geraniaceae contra los hongos *Aspergillus flavus* CML 1816, *Aspergillus carbonarius* CML 1815, *Aspergillus parasiticus* CMLA 817 y las bacterias *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25 992. El aceite esencial se aisló por destilación al vapor utilizando un aparato Clevenger modificado; se identificaron sus constituyentes y se cuantificó por análisis GC / MS y GC-FID. Las pruebas bioanalíticas *in vitro* se han realizado mediante un diseño completamente al azar. Las concentraciones de aceite esencial empleado variaron de 0,1 a 2 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ (en sulfóxido de dimetilo) para la especie de

de inhibición formados por las bacterias y los hongos se midieron seguidos de cálculos del porcentaje de inhibición. Los resultados mostraron que el componente principal del aceite esencial es el melileugenol (96,80%). Este aceite esencial inhibió el crecimiento de hongos (inhibición del 100%) y exhibió un pequeño efecto sobre las bacterias a las concentraciones ensayadas.²⁴

Nacionales

Guerrero et al (2013). Trujillo-Perú. Realizaron un estudio “*in vitro*” de la actividad antibacteriana de *Pelargonium peltatum* (L.) L'Hér. Sobre *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* y *Streptococcus mitis*. El objetivo fue comparar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto acuoso obtenido de las hojas de *Pelargonium peltatum* (L.) L'Hér (geranio hiedra) sobre *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* y *Streptococcus mitis*, frente a la clorhexidina. Para el ensayo antibacteriano se empleó el método de difusión en agar. Se trabajó con 18 muestras de microorganismos de cada especie mencionada, aisladas de los pacientes de una clínica dental. Posteriormente, se prepararon 6 concentraciones diferentes del extracto acuoso, para comparar la actividad antibacteriana frente al colutorio de clorhexidina. El análisis fitoquímico preliminar se realizó mediante el ensayo a la gota. Los datos obtenidos se sometieron a análisis estadísticos como estimadores de media y dispersión, análisis de varianza unifactorial y prueba

de Tukey. Los resultados mostraron que la más alta actividad antibacteriana se obtuvo en la concentración de 400 mg/mL y la más baja en la de 25 mg/mL del extracto acuoso, sobre las tres especies de *Streptococcus*. en comparación con la clorhexidina; con efecto similar a la concentración de 200 mg/mL. El ensayo fitoquímico preliminar indicó la presencia de flavonoides, taninos, esteroides, antocianinas y saponinas. Se concluyó que el extracto acuoso de *Pelargonium peltatum* tiene actividad antibacteriana sobre *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis* y *Streptococcus sanguis*.¹⁸

Locales

No se encontró estudios sobre el extracto Etanólico *del Pelargonium x hortorum* L.H. Biley (geranio común).

2.2 Bases teóricas y científicas.

2.2.1 Geranio

2.2.1.1 Historia

El nombre geranio se deriva del vocablo griego geranos o “grulla” debido a que las vainas de la semilla tienen la forma del pico de una grulla. Fue antiguamente considerada como una planta de grandes virtudes curativas y empleada como remedio para heridas, tumores, el cólera así como para curar problemas de la piel, úlceras y detener hemorragias. Se afirmaba que el geranio ayudaba a mantener alejados a los malos espíritus. En 1819, un

químico llamado Recluz, fue el primero en destilar las hojas del geranio. Más tarde Demarson, otro químico y botánico, hizo unos experimentos en París, para detectar cuál de los distintos geranios era el más indicado para extraer el aceite esencial y presentarlo a los terapeutas.²⁵

Los geranios tal y como los conocemos en la actualidad tienen muy poco que ver con las primeras plantas de *Pelargonium* spp. que llegaron a Europa a principios del siglo XVII. Exploradores ingleses y holandeses, fueron los responsables de traer las primeras especies de *Pelargonium* desde Suráfrica. Inicialmente eran plantas exclusivas de gente de clase alta debido a su alto precio. Esta situación cambió ya que a finales del siglo XVII y principios del XVIII, la importación de otras especies del género *Pelargonium* aumentó de forma drástica debido al interés en aquella época por el cultivo de plantas en invernadero y, en especial, al interés que producían las plantas exóticas.²⁶

A mediados del siglo XVIII los geranios llegaron a EE.UU. y Australia y se volvieron muy populares en California. Esto hizo que el número de cultivares creciera exponencialmente hasta que se paró con el principio de la primera guerra mundial. Se perdieron así los cultivares, los parentales y los nombres.²⁷

Por este motivo muchas sociedades están intentando recuperar los híbridos perdidos por tanto tiempo. Existe gran dificultad en la clasificación de las

especies y en la determinación de la filogenia de los distintos cultivares existentes.²⁷

Desde el inicio del siglo XIX se han creado más de 4.000 variedades de geranio mediante mutaciones e hibridaciones. La mejora de este género se realizó principalmente por universidades y empresas del Norte de Europa y Estados Unidos. Al parecer el desarrollo de todo el conjunto de geranios se debe a menos de diez especies.²⁸

Para conocer la procedencia del geranio zonal (*Pelargonium x hortorum* Bailey) se han realizado varios estudios de cruzamiento y cromatografía en capa fina de metabolitos secundarios de extractos alcohólicos de hojas y de los patrones de distribución de alcaloides.²⁹

La conclusión general de estos trabajos implican que *P. x hortorum* Bailey se originó por cruzamientos de especies silvestres pertenecientes al género *Pelargonium* L'Hér. ex Ait., subgénero *Ciconium* (Sweet) Harvey. Las especies que contribuyen son principalmente dos: *P. zonale* (L.) L'Hér. ex Ait. y *P. inquinans* (L.) L'Hér. ex Ait. junto con otras cinco pertenecientes a este mismo subgénero: *P. scandens* Ehrh., *P. hybridum* (L.) L'Hér. ex Ait., *P. frutetorum* Dyer, *P. stenopetalum* Ehrh y *P. acetosum* L.²⁷

2.2.1.2 Clasificación y Sistemática

Taxonomía ³⁰

Rango	Nombre científico y nombre común
Reino	Plantae - Plantas
Subreino	Tracheobionta - Plantas vasculares
Superdivision	Fanerógamas - Spermatophyta
Division	Plantas de flor - Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida - dicotiledóneas
Subclase	Rosidae
Orden	Geraniales
Familia	Geraniaceae - familia del geranio
Género	<i>Pelargonium</i> L'Her. ex Aiton - geranios
Species	<i>Pelargonium</i> × <i>hortorum</i> L.H. Bailey (pro sp.) [<i>inquinans</i> × <i>zonale</i>] – Geranios zonales

Taxonómicamente el geranio se clasifica dentro de la familia *Geraniaceae* Juss. Según distintos autores, esta familia incluye entre cinco y once géneros a los que pertenecen unas 750 especies. Los géneros más conocidos son *Erodium* y *Geranium* al nivel de plantas silvestres y *Pelargonium* en cuanto a plantas de jardines.⁵

Cuando nos referimos al geranio, en realidad, estamos hablando de numerosas especies y dos géneros distintos: *Pelargonium* y *Geranium*. Los nombres de estos géneros normalmente se confunden debido a que el término ‘geranio’ es el nombre común de ciertas especies de *Pelargonium*. La diferencia entre ambos géneros fue establecida por L’Héritier, las principales características que los distinguen son la presencia en *Pelargonium* de un tubo nectario^{26, 27} y la diferencia en el número de estambres.³¹ Los nombres proceden del griego y se refieren a las formas semejantes a picos de aves que adquieren sus frutos. Así la palabra “Geranium” proviene de *geranos* que significa grulla y “Pelargonium” deriva de *pelargos*, que significa cigüeña (Laughner, 1993).²⁶

<i>Pelargonium</i>	<i>Geranium</i>
Originarias de África del Sur	Originaria de los países templados o fríos (<i>G. montanum</i> , <i>G. grandiflorum</i> ..., cultivadas como plantas vivaces).
Flor ligeramente zigomorfa: 7 estambres de cada 10 son fértiles.	Flor regular de 10 estambres.
Agujón nectario o pétalo posterior.	Ningún espólo

El gran número de especies incluidas dentro del género *Pelargonium* L., se dividen en la actualidad en dieciséis subgéneros o secciones.³² La clasificación de los individuos pertenecientes a este género varía a medida que se van realizando estudios para conocer mejor las relaciones que existen entre ellos. Estas dificultades se deben a que los geranios que actualmente conocemos son híbridos con una herencia compleja que proceden de cruzamientos realizados entre diferentes especies durante siglos. Los primeros intentos de clasificación se basaron en variables macroscópicas centrándose en caracteres morfológicos, anatómicos, palinológicos y ecológicos.^{32, 33} Con la aparición de nuevas técnicas se han realizado estudios cariológicos,³⁴ quimiotaconómicos³⁵ y a nivel de material genético con el empleo de RAPDs [Random Amplified Polimorphic DNA],³⁶ ASAP [Arbitrary Signatures from Amplification Profiles]³⁷ y análisis del DNA mitocondrial y cloroplástico.³⁸

Únicamente tres de los subgéneros incluidos dentro del género *Pelargonium* L. tienen importancia comercial: *Dybrachya*, *Pelargonium* y *Ciconium*. Dentro del subgénero *Dybrachya* se clasifica la gitanilla, geranio de hiedra o murciana (*Pelargonium peltatum* L. L'Hér. ex Ait. o *P. x hederifolium*). En el subgénero *Pelargonium* se incluyen el geranio de pensamiento o pelargonio (*P. x domesticum* Bailey o *P. grandiflorum* Willd.) y los geranios de olor (*P. odorantissimum* L'Hér. ex Ait., *P. graveolens* L'Hér. ex Ait., *P. capitatum* L'Hér. ex Ait., *P. crispum* L'Hér. ex Ait., *P. quercifolium* y *P. tomentosum*). En el subgénero *Ciconium* se clasifica el geranio zonal o común

(*P. x hortorum* L.H. Bailey) y sus ancestros (*P. zonale* (L.) L'Hér ex Ait. y *P. inquinans* (L.) L'Hér ex Ait., *P. scandens* Ehrh., *P. hybridum* (L.) L'Hér ex Ait., *P. frutetorum* Dyer, *P. stenopetalum* Ehrh y *P. acetosum* L).³⁹

En el nombre de *Pelargonium x hortorum*: 'x hortorum' se traduce como 'de jardines, de huertas' y se refiere a su uso doméstico como híbrido complejo⁷. Es uno de los grupos más importantes en la horticultura y es usada como planta en maceta o planta para ser trasplantada.⁴⁰

La familia Geraniaceae es reconocida en el Perú por presentar cinco géneros y 59 especies, mayormente hierbas y subarbustos⁴¹.

2.2.1.3 Descripción botánica

Botánicamente la familia *Geraniaceae* está formada por plantas herbáceas aunque pueden ser arbustos o medio arbustos con tallos gruesos y carnosos.⁵

42

Las plantas del género *Pelargonium* son plantas vivaces de follaje perenne (a diferencia de las plantas pertenecientes al género *Geranium*) semirresistentes, casi siempre arbustivas.⁴³

Los geranios tienen una base leñosa pero los nuevos brotes son tiernos. En condiciones favorables pueden alcanzar más de un metro de altura. Hay algunas variedades llamadas 'variedades enanas' que no alcanzan más de 25 centímetros de altura y hay otros más pequeños llamados 'miniaturas'.⁴³

Toda la planta está cubierta por una fina capa pilosa. Los pelos glandulares del tallo, peciolo y hoja producen las características fragancias de terpenos de estas especies.⁴³

El tallo es grueso, más ramificado en la base de la planta. Presenta parejas de estípulas verdes en forma de triángulos que se asume que son fotosintéticas y que se unen de forma persistente en la zona de la yema.⁴³

Las hojas son gruesas con un aspecto aterciopelado. Pueden llegar a tener más de diez centímetros de envergadura, son palmeadas y tienen de tres a cinco lóbulos poco profundos con un borde ondulado. Se unen al tallo mediante un peciolo largo.⁴⁴ La superficie de la hoja no es lisa, está curvada en la base haciendo que el agua se deslice hacia la parte baja de la hoja donde se une con el peciolo.¹⁶

Las hojas se sitúan en el tallo de forma alterna en la parte superior y opuesta en la zona inferior.⁵ Las tonalidades verdes varían en función de la variedad y suelen tener una 'zona' característica en el centro del haz y paralela al borde de la hoja. A esta característica le debe su nombre el de geranio zonal (*Pelargonium x hortorum*).⁴³ La banda es debida a la presencia de antocianinas y puede ser de color negro, castaño, rojo, bronce o carmín. Algunas especies destacan por sus hojas teñidas de blanco o amarillo,⁴⁴ pueden ser variegadas, bicolores e incluso tricolores.⁴³

Las especies del género *Pelargonium* tienen una inflorescencia compuesta redondeada situada al final de un largo pedúnculo floral. Las inflorescencias contienen docenas de flores pentámeras y están agrupadas en umbelas densas y compactas.⁴⁴ Algunas veces están ramificadas y como en ocasiones las flores más antiguas se encuentran en el centro se suelen denominar pseudoumbelas.⁴⁵ Contienen brácteas.⁴³

Las flores difieren de las de otros géneros porque son asimétricas, tienen los dos pétalos posteriores diferenciados de los tres pétalos anteriores. Además, el sépalo posterior está modificado de forma que se une con el pedicelo y forma el *hipantium*- tubo nectarario. Su longitud oscila entre unos pocos milímetros y varios centímetros y se utiliza como carácter diferencial.⁴⁵ Las flores son hermafroditas en cuanto a reproducción y polinización.⁵ Tienen entre dos y siete estambres fértiles cuyos filamentos están unidos en la base⁵ y cuyo número, curvatura y posición respecto a los estambres no fértiles también son caracteres identificativos. Cada una de las flores tiene un único estilo con un estigma de 5 lóbulos.²⁷ Las flores son protándricas, las anteras maduran tres días antes de que el estigma se vuelva receptivo evitando así la autofecundación. El ovario tiene placentación axilar, consta de cinco carpelos cada uno de los cuales contiene dos óvulos superpuestos resultando en un total de diez óvulos por flor. Únicamente uno de estos dos óvulos superpuestos, generalmente el superior, es el que da lugar a la semilla.²⁷ Los miembros del género *Pelargonium* presentan un sistema de incompatibilidad

esporofítica y granos de polen trinucleados. Estos granos de polen no germinan normalmente en un estigma incompatible.²⁷ Además, se ha descrito la existencia y herencia de esterilidad masculina en esta especie.⁴⁶ Debido a la incompatibilidad esporofítica el éxito de la producción de híbridos interespecíficos es bajo.²⁸ Se ha utilizado con éxito el rescate de embriones para obtener plantas de cruzamientos intraespecíficos y entre diferentes subgéneros.^{47, 48}

Las flores de *Pelargonium* son de tres tipos: simples, con 5 pétalos; semidobles que tienen de 6 a 15 pétalos y dobles donde se observan más de 16 pétalos.²⁸ Las flores dobles contienen pétalos extra que incorporan anteras que pueden ser funcionales o no. Al parecer este doblamiento implica la total transformación de todo el aparato sexual dando lugar a flores estériles.²⁷

Los cinco pétalos tienen normalmente el mismo color aunque a veces aparecen nerviaciones en los pétalos superiores. Los colores de las flores son claros y brillantes con tonalidades muy variadas que incluyen el blanco, el crema, el naranja, el rosa, el salmón, el rojo, el malva, morado y combinaciones de estos. En muchas ocasiones poseen un color más intenso en el interior de los pétalos.^{49, 50} Las flores se abren desde mayo hasta octubre sin ninguna interrupción.⁴⁴

Los frutos tienden a curvarse en forma de pico y son esquizocarpos,⁵ es una forma de fruto entre dehiscente e indehiscente donde cada uno de los cinco

mericarpus contiene una semilla. Cuando los frutos maduran se escinden y pueden ser diseminadas por el viento o por animales. La cápsula del fruto tiene un color verde y cuando madura se torna marrón.⁴³

La cubierta de la semilla es extremadamente fuerte, protege el interior del oxígeno y del agua. Algunas poseen también inhibidores químicos en la semilla o en su cubierta lo que hace que las semillas no germinen a la vez de forma natural. Si la semilla no se escarifica su germinación puede retrasarse hasta seis meses y menos de la mitad de las mismas sobreviven. Una vez la cubierta se rompe mediante un pequeño corte o punzamiento el agua puede penetrar en la semilla y comienza la germinación entre 2 y 20 días después en aproximadamente un 80% de las semillas.⁵¹ Antes de escarificar las semillas, hay que eliminar el mericarpo. Se puede escarificar colocando las semillas entre papel de lija y restregándolas suavemente.⁴³

El *Pelargonium x hortorum* (geranio zonal o común) tiene porte arbustivo y recto y puede alcanzar unos 60 cm de altura. Presenta una floración muy prolongada; ciertas variedades florecen desde primavera hasta mediados de otoño, e incluso buena parte del invierno si la temperatura no desciende demasiado. En zonas frías hay que preservarlos del hielo cubriéndolos con cristal o plástico. Las hojas son redondeadas y suelen presentar una zonación paralela al borde de la hoja.⁴³

Según su nervadura es palmada y su base foliar es cordada. Las flores están en umbela, pueden ser simples o dobles, son vistosas y aromáticas, el cáliz posee 5 sépalos libres; la corola 5 pétalos libres, de 10 – 15 estambres (no todos fértiles) y un ovario súpero.⁴

2.2.1.4 Origen y distribución geográfica

Los miembros de la familia *Geraniaceae* se distribuyen por todo el mundo encontrándose desde zonas frías hasta en zonas tropicales: Europa, la zona del Mediterráneo, Asia Central, Australia, África, Norte América, Centro América y Suramérica.⁵ En lo que se refiere al género *Pelargonium* más de un 90% de las aproximadamente 280 especies dentro del género son originarias de Suráfrica mientras que las especies pertenecientes al género *Geranium* proceden principalmente de Asia Central.^{26, 52}

Las principales especies utilizadas para la obtención de los geranios zonales (*Pelargonium x hortorum*) se encuentran creciendo de forma natural en las provincias del este de Sudáfrica. En esta región, las lluvias son consistentes y se encuentra a mitad de camino entre las regiones de veranos extremos y de lluvias invernales.⁴²

La familia Geraniaceae es reconocida en el Perú por presentar cinco géneros y 59 especies, mayormente hierbas y subarbustos. 18 endemismos ocupan principalmente las regiones Puna Húmeda y Seca y Mesoandina, entre los 2000 y 4800 m de altitud. Dos Geraniaceae endémicas se encuentran

representadas dentro del Sistema Nacional de Áreas Naturales Protegidas por el Estado.⁴¹ Un ejemplo es que crece a lo largo del río Chillón en Lima. El “Geranio Rose” es un pelargonium de los jardines y es una fuente de algunos aceites importantes en perfumería.⁵³

2.2.1.5 Propiedades fitoquímicas

Los fitoquímicos son compuestos bioactivos naturales que se encuentran en las plantas medicinales.⁴⁵ La presencia de Pelargonin (pelargonidina 3, 5-diglucósido) y de malvidina 3, 5- diglucósido estuvo presente en flores de *Pelargonium veitchianum*, *Pelargonium bertiana* y *Pelargonium cucullatum*. En otras especies de *Pelargonium* se detectaron alcaloides indol, presente a nivel de las hojas.⁴⁶ De 19 análisis de las especies de *Pelargonium*, se confirma que los flavonoles son los principales constituyentes flavonoides de la hoja vacuolar en este género.^{47, 48} Existen muchas investigaciones en las especies de *Pelargonium* donde se centran principalmente en la composición química de los aceites esenciales de esta planta⁴⁹, los aceites esenciales provienen básicamente de los pelos glandulares de ambas superficies de las hojas.⁵⁰ En un estudio realizado por Verma (2010) indicó que la composición química del aceite esencial del *Pelargonium graveolens* se vio afectada significativamente por la duración del cultivo, y el aceite que tuvo mejor proporción de Citronelol y geraniol se obtuvo a partir de cultivos de enero.⁵¹ Se han detectado Cerca de 230 componentes en los aceites esenciales de las especies de *Pelargonium*, son una mezcla compleja de más de 120

monoterpenos y sesquiterpenos tales como el pineno, felandreno, mirceno, limoneno, germacreno, cariofileno y otros compuestos orgánicos como terpenos, alcoholes, ésteres, aldehídos, cetonas y fenoles. Los esterres son formiato de citronelilo (5-8%) y formiato de geranilo (7%). Los monoterpenos son linalol (2-12%), citronelol (20- 45%), geraniol (1-4%). Las cetonas son la mentona (1-4%). Los aldehídos son citronelal (1%) y geranial (1-5%). También presenta compuestos como cumarinas y varios relacionados como éteres, glicósidos y sulfatos.^{50, 52} Otra clase de compuestos químicos han sido registrados en los pelos de la hoja o tricomas, como flavonoides, éteres metílicos y derivados del ácido salicílico. Los análisis químicos en el *Pelargonium graveolens* han conducido a la caracterización de alrededor de 65 metabolitos, incluyendo ácidos fenólicos, ácidos cinámicos, taninos, flavonoides y cumarinas.⁵³ Se puso en evidencia un alto contenido de taninos, aminoácidos como etanolamina y tiramina, fenol, derivados de ácido fenolcarboxílico (ácido cafeico, ácido clorogénico, ácido paracumárico), antocianidina, galocatequina y una notable alta concentración de diferentes derivados de la cumarina (siete en total), de los cuales la 5,6- dimetoxi-7- hidroxycumarina y su 7-O-glucósido se detectaron por primera vez en el reino vegetal.^{54, 55} En extractos de plantas de *Pelargonium graveolens* se producen aceites esenciales de alta calidad; se han identificado treinta y dos compuestos que constituyen el 99,23% del aceite esencial. Los componentes principales son el citronelol (29,90%), trans geraniol (18,03%), 10-epi- γ - eudesmol

(8,27%), isomentona (5,44%), linalol (5,13%), acetato de geranilo (4,52%), γ -cadineno (2,89%), butirato de geranilo (2,53%), tigolato de geranilo (2,50%), germacreno D (2,05%); también es rico en Componentes oxigenado y fracciones de rodinol comercial (linalol, citronelol, geraniol)⁵⁶. Un estudio en el *Pelargonium sidoides* detectó la presencia de sulfatos de cumarina, glucósidos cumarínicos y proantocianidinas.⁵⁷

Se determinó que especies de *Pelargonium* son ricas en flavonoides y taninos hidrolizables. La presencia de cumarinas disminuye la infección de las vías respiratorias superiores y la gripe, disminuye la gravedad de los síntomas mediante la mejora del sistema inmunológico.⁵⁸ La presencia de taninos en las partes aéreas de la planta puede explicar el uso tradicional en la curación de heridas, a lo que se atribuye su acción astringente. De manera similar la presencia de taninos y proantocianidinas oligoméricas en los aceites de geranio, dictan su uso tradicional en medicina, para el tratamiento de trastornos gastrointestinales tales como diarrea.⁵⁹

El análisis del aceite esencial de *Pelargonium graveolens* reveló que el citronelol (26,7%) y geraniol (13,4%) fueron los componentes principales entre sesenta y siete componentes identificados, otros componentes que estuvieron presente fueron el nerol (8,7%), formiato de citronelilo (7,1%), isomentona (6,3%), linalol (5,2%), y 10-epi- γ -eudesmol (4,4%).¹¹

Estudios del *Pelargonium hortorum* (geranio) han demostrado que sus fitoconstituyentes más esenciales son esteroides, triterpenoides, fenoles, flavonoides y taninos; ⁹⁰ también se conoce la actividad antiinflamatoria del *Pelargonium roseum* similar al naproxeno.⁹¹

2.2.1.6 Actividad farmacológica

Actividad antibacteriana

La actividad antimicrobiana de los extractos de *Pelargonium* y sus componentes se documentó contra ciertas bacterias (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Haemophilus influenzae*), hongos (*Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Aspergillus fumigatus*, *Mucor racemosus*, *Rhizopus nigricans*) y patógenos, así como levaduras oportunistas tales como *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei* y *Cryptococcus neoformans*.^{56, 60} Especies de *Pelargonium* *Glutinosum*, *Pelargonium pseudoglutinosum*, *Pelargonium scabrum* y *Pelargonium sublignosum* mostraron una considerable actividad antimicrobiana contra las bacterias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*) y la bacteria Gram-negativa (*Klebsiella pneumoniae*). Los aceites esenciales de *Pelargonium graveolens*, *Pelargonium tomentosum*, *Pelargonium odoratissimum*, *Pelargonium denticulatum* y *Pelargonium ficifolium* han demostrado que poseen buena actividad antibacteriana contra *Staphylococcus*

aureus, *Proteus vulgaris*, *Bacillus cereus* y *Staphylococcus epidermidis*.⁶¹ Los extractos de *Pelargonium sidoides* y *Pelargonium reniforme* tienen modesta actividad antibacteriana directa por la presencia de cumarinas y compuestos fenólicos aislados, que mostraron en los ensayos de dilución en agar valores de concentración inhibitoria mínima entre 200 y 1000 mcg / ml.⁶² Los ácidos grasos insaturados de las raíces, en especial el ácido linoleico, tenían una actividad antimicobacteriana a 2 mcg / ml.^{63, 64} Los extractos de *Pelargonium sidoides* han documentado cumarinas y compuestos fenólicos en una variedad de ensayos funcionales,^{60, 65} incluyendo la mejora de la síntesis de interferón-beta y la activación de las células asesinas naturales, gracias a ciertos moduladores inmunológicos.⁶⁶ Los taninos de la planta, inducida sintéticamente y las citoquinas pueden regular la expresión de genes de células de tipo macrófago.⁶⁷ El metanol, la acetona y el agua de los extractos de las raíces y las hojas de *Pelargonium reniforme* (Curtis) mostraron significativa actividad antimicrobiana contra bacterias gram-positivas (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus Kristinae faecalis* y *Streptococcus*) y bacterias gram-negativas (*Salmonella pooni*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*). Tanto las raíces y las hojas tenían similares actividad antibacteriana sobre las bacterias gram-positivas sin embargo, las raíces mostraron una mayor actividad contra bacterias gram-negativas.⁶⁸

Se detectó el efecto antibacteriano del *Pelargonium sidoides* en ocho cepas de *Neisseriae* spp, cuatro *Haemophilus influenzae*, cuatro *Streptococcus pneumoniae*, cuatro *Staphylococcus epidermidis* y cuatro *Moraxella catarrhalis*.⁶⁹ Extractos de la raíz del *Pelargonium reniforme* (CURT) y *Pelargonium sidoides* (DC) inhibieron el crecimiento de *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* y *Streptococcus pneumoniae*.⁶⁴ En el *Pelargonium rádula* Los flavonoides principales, isoquercitrina y rutina, contribuyen significativamente en la actividad antimicrobiana global de la planta. Ambas fracciones (isoquercitrina flavonoide F1 y flavonoide rutina F2) mostraron una fuerte actividad inhibitoria frente a *Staphylococcus aureus*, *Providencia rettgeri*, *Candida tropicalis*, *Microsporium gypseum* y *Staphylococcus* spp. (Coagulasa negativo). La *Candida lusitaniae* fue fuertemente inhibida sólo por la fracción F1 y el *Fusarium graminearum* sólo por la fracción F2. Estudios de ciertos componentes como el citral, citronelal, ácido citronélico, geraniol, linalol y alfa pineno mostraron una potente actividad antimicrobiana en los aceites de algunas especies de *Pelargonium*.⁶¹

La profunda actividad antimicrobiana del *Pelargonium* puede explicar en parte sus propiedades de curación de heridas.⁷⁰ El amplio espectro de actividad antimicrobiana de los extractos puede ser por la presencia de cumarinas y ácidos fenólicos⁵¹ y pueden ser fuentes eficaces contra infecciones nosocomiales e infecciones de heridas.^{71, 72, 73}

2.2.1.7 Usos tradicionales

Ciertas especies de *Pelargonium* son ampliamente utilizados tradicionalmente por curanderos en las zonas del sur de África, por sus efectos curativos y paliativos en el tratamiento de diarrea, disentería, fiebre, infecciones de las vías respiratorias, malestar del hígado, heridas, gastroenteritis, hemorragia, problemas del riñón y de la vejiga.^{74, 75}

Tradicionalmente, las raíces se han usado medicinalmente para una multitud de dolencias; tanto la raíz y el resto de la hierba se han utilizado para diferentes propósitos desde la antigüedad, como para tratar la malaria, la inflamación abdominal y trastornos uterinos. También fueron utilizados en decocción para lavar a pacientes que sufren de fiebre, también se uso directamente masticado o en polvo y mezclado con el alimento.^{74, 76}

Las Infusiones y decocciones de los tubérculos es algo común; un método tradicional de usar las raíces de *Pelargonium* es hervir el tubérculo en leche.⁶⁰

Los extractos de la raíz se ha demostrado que tienen propiedades antibacterianas, antifúngicas y actividad antituberculosa; esto puede justificar su uso por el pueblo de Sudáfrica en el tratamiento de la tos y la tuberculosis.⁶⁴

Según la Organización Mundial de la Salud, el extracto etanólico de las raíces de dos especies de *Pelargonium* se ha utilizado en Alemania desde 1980 como medicina, con el nombre de marca 'Umckaloabo' utilizado para las

infecciones agudas y crónicas, especialmente en las infecciones de las vías respiratorias, oído, nariz y garganta.⁷⁷

Las hojas se utilizan externamente para el tratamiento de heridas, abscesos, neuralgia, infecciones de garganta y una amplia gama de enfermedades de la piel como la tiña, úlceras y erupciones cutáneas.⁵⁰ En la medicina popular el *Pelargonium* se utiliza internamente como para metrorragia, menorragia, hematuria, hemorroides, sífilis, úlceras pépticas y duodenales. Descrito como cardiotónico y antidepresivo, se sugiere para la leucorrea y como enjuague bucal. Es comúnmente usado para las dolencias infantiles como pollo viruela, el sarampión y las paperas.⁷⁸ También son útiles en el tratamiento menstrual y problemas de la menopausia, congestión de pecho, celulitis y retención de líquidos.⁷⁴

Se puede utilizar para tratar el herpes zóster, herpes simple, eczema, piel seca, pie de atleta, para la hidratación y regenerativa en afecciones de la piel.^{51, 79, 80, 81} El hervido de las hojas de esta hierba se utiliza para proteger heridas contra gusanos.⁸² En los animales, la planta se utiliza para evitar la purga en los caballos.⁸³

También se utiliza en productos de perfumería, cosméticos, jabones, cremas, aromaterapia^{46, 84} y tiene potenciales efectos inmuno moduladores en células asesinas naturales.⁸⁵ Los aceites esenciales de *Pelargonium* mostraron buena actividad antioxidante.⁶⁰ Mejora la circulación y es excelente para la

estimulación y la limpieza del sistema linfático, promueve la salud del sistema inmunológico, es útil para la desintoxicación y para personas con adicción, flebitis, hemorroides, retención de líquidos e indigestión.⁷³

1.2.1.8 Toxicidad

El aspecto toxicológico, el aceite de geranio se ha implicado en raras ocasiones y todas las referencias son atribuibles a ponerse en contacto con la piel, pudiendo ocasionar dermatitis y sensibilización. La mayoría de las referencias se deben al Geraniol, un componente principal del aceite de geranio. Las pruebas de parche que contengan geraniol fueron negativas; Sin embargo, algunos estudios han indicado la dermatitis a los perfumes que contienen aceite de geranio.⁸⁷ Informes recientes de estudios japoneses proporcionaron una lista de fragancias Clase A clasificados como sensibilizantes cosméticos comunes y sensibilizadores primarios, donde fueron incluidos los aceites de geranio.⁸⁸

1.2.1.9 Uso en odontología

Los principales constituyentes de los aceites de geranio son el beta-citronelol y el geraniol y debido a los efectos inhibitorios notables del aceite de geranio en el crecimiento de *Candida*, así como sus propiedades de curación de heridas, podría ser beneficioso en el tratamiento de la estomatitis inducida por la dentadura.⁷³

En un estudio realizado por Mohammad et al. (2011) mencionan la eficacia del gel de *Pelargonium graveolens* al 1% en la remisión del eritema y la reducción significativa de la carga fúngica en pacientes con estomatitis protésica, después de recibir tratamiento dos veces al día por catorce días, con dicho gel.⁸⁹

2.2.2 Enfermedad Periodontal

El periodonto está constituido por los tejidos de protección y apoyo del diente; se compone de encía (periodonto de protección), ligamento periodontal, cemento y hueso alveolar (periodonto de inserción); estos tejidos están sujetos a variaciones morfológicas y funcionales, así como a cambios motivados por la edad.⁹⁹ Las enfermedades periodontales son lesiones con características inflamatorias causadas por una infección por placa bacteriana y/o patógenos específicos. Existen dos grandes cuadros: gingivitis, la cual corresponde a una respuesta inflamatoria del tejido gingival frente a la acumulación de placa bacteriana,¹⁰⁰ y periodontitis, que corresponde a una patología infecciosa de tipo específica, con características inflamatorias que afecta los tejidos de soporte dentario, es decir, ligamento periodontal, cemento y hueso alveolar.^{101, 102} A diferencia de la gingivitis, en la periodontitis existe pérdida de inserción conectiva en presencia de sacos periodontales, reabsorción ósea, e inflamación en grados variables.¹⁰³

La periodontitis es causada por un sobrecrecimiento de bacterias periodontopatógenas en la placa subgingival, seguida de una respuesta inmuno-inflamatoria en un hospedero susceptible.¹⁰⁴

La condición de Salud Bucal en el Perú, atraviesa una situación crítica debido a la alta prevalencia de enfermedades Odontoestomatológicas, tenemos así que la prevalencia de caries dental es de 90%, enfermedad periodontal 85% y mal oclusión 80%, constituyendo un problema de salud pública.²⁰

2.2.2.1 Etiopatogenia

Numerosos estudios han demostrado que las enfermedades periodontales son de naturaleza infecciosa y que los microorganismos presentes en la placa bacteriana, localizada en la región del surco gingivo-dentario o placa subgingival, constituyen el agente etiológico principal de las enfermedades.^{105, 106}

Las bacterias colonizan la superficie dentaria en la región del surco gingivodentario, donde se multiplican y se extienden en dirección apical, formando la placa subgingival o biofilm bacteriano subgingival, el cual es responsable de albergar un gran número de especies bacterianas. Se han descrito más de 500 de éstas especies, entre las cuales, las de mayor prevalencia en la periodontitis son *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis* (antes *Bacteroides forsythus*), y *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, principalmente.¹⁰⁷ Estas bacterias tienen un papel

significativo en la patogénesis de la periodontitis, participando en la formación del saco peridontal, la destrucción del tejido conectivo y la reabsorción del hueso alveolar a través de mecanismos directos e indirectos.¹⁰⁸

Otras especies, como *Fusobacterium nucleatum*, especies de *Campylobacter*, *Prevotella intermedia/nigrescens*, *Peptoestreptococcus micros* (*Micromonas micros*) y varias espiroquetas, también han sido implicados en periodontitis destructiva. El rol de estas especies bacterianas en la patogénesis de la periodontitis está basado en su alta frecuencia de aislamiento y su potencial patogénico que incluye factores de virulencia, que les permiten evadir los sistemas de defensa del hospedero.^{109, 110} Estos incluyen la habilidad para unirse a células epiteliales y proteínas de la matriz extracelular, producir una gran cantidad de proteasas, colagenasas, endotoxinas (LPS), mecanismos de resistencia antibiótica, bacteriocinas, producción de inhibidores quimiotácticos, leucotoxinas, citoquinas metabólicas tóxicas (H₂S, putrecinas), proteínas inmunosupresoras, etc.¹¹⁰

Sin embargo, aunque la infección bacteriana es el agente etiológico de la periodontitis, la respuesta inmune desarrollada por el individuo frente a la agresión bacteriana es en gran medida responsable de los procesos inflamatorios que pueden generar en grado extremo la destrucción de los tejidos duros y blandos del periodonto, adquiriendo importancia entre estos

mecanismos, tanto la magnitud de la respuesta, como el balance/desbalance que se establece entre los diferentes componentes de la respuesta inmune.¹⁰⁸

Los procesos inflamatorios conllevan tanto la activación de macrófagos como la infiltración de leucocitos provenientes desde la sangre. La activación de células inmunocompetentes induce diversos cambios entre los que se incluyen la producción y secreción de citocinas.¹⁰⁸

Las enzimas proteolíticas (MMPs), son producidas en todo el organismo por diferentes tipos celulares tales como leucocitos polimorfonucleares neutrófilos (PMNNs), macrófagos, fibroblastos, células epiteliales, y también por bacterias orales patógenas. Las MMPs juegan un importante rol en la mantención de la integridad de los tejidos conectivos, pudiendo degradar la mayoría de los componentes de la matriz extracelular. Participan además, en el metabolismo del hueso alveolar que finalmente producen colapso y destrucción del ligamento periodontal y una reabsorción del hueso. Se ha visto que las MMP-9 y MMP-2 se presentan en altos niveles en pacientes con periodontitis activa, en comparación con sujetos sanos, y que luego de someterse a un tratamiento periodontal, su concentración baja notablemente. La importancia de la respuesta inflamatoria del hospedero en la patogénesis periodontal ha presentado la oportunidad para explorar nuevas estrategias en el tratamiento de la periodontitis.^{111, 112}

Las células del epitelio de unión actúan como una barrera mecánica para el ingreso de microorganismos y como sensores de infección microbiana, generando y transmitiendo señales entre las bacterias y las células de tejidos subyacentes a los tejidos periodontales incluidas células inmunitarias. *Porphyromonas gingivalis* es capaz de penetrar los tejidos gingivales, y de localizarse intracelularmente en las células del hospedero, alterando así la fisiología celular normal.

La invasión de células por *Porphyromonas gingivalis* afecta la inmunidad innata del hospedero, ya que por ejemplo, la secreción de IL-8 por células epiteliales gingivales es inhibida luego de la invasión bacteriana. *Porphyromonas gingivalis*, al inhibir las IL-8 en sitios de invasión gingival, podría generar un efecto debilitante en la defensa innata del hospedero, donde la exposición bacteriana es constante. De esta forma, el hospedero no sería capaz de detectar la presencia bacteriana y no activaría a los leucocitos para su remoción, resultando en un sobrecrecimiento bacteriano que contribuiría a una exacerbación de la periodontitis.

Con respecto al impacto que produce *Porphyromonas gingivalis* en el metabolismo del hueso, este microorganismo por una variedad de mecanismos intrincados e interconectados, puede contribuir a la pérdida de hueso alveolar estimulando la reabsorción de hueso e inhibiendo la formación de éste. LPS de *Porphyromonas gingivalis* pueden activar a los osteoclastos directamente y causar la liberación de prostaglandina E (PGE), y citokinas

IL-1b y TNF-a desde los macrófagos, monocitos y fibroblastos. Estos compuestos son potentes mediadores locales de la reabsorción de hueso y además, pueden inhibir la síntesis de colágeno realizada por los osteoclastos e inducir la producción de MMPs del hospedero, las que destruirían hueso y tejido conectivo.¹¹³

2.2.2.2 Biofilm de la placa subgingival

El concepto de biofilm es definido como una comunidad microbiana asociada a la superficie dentaria o a cualquier otro material duro no descamable.¹¹⁴ El biofilm se caracteriza por la rápida formación de capas de microorganismos debido al amplio desarrollo bacteriano, acompañado por la producción de grandes cantidades de polímeros extracelulares tipo polisacáridos. Esto protege a los microorganismos de los antimicrobianos. La placa dental como depósito microbiano natural constituye un verdadero biofilm, que se compone de bacterias incluidas en una matriz compuesta, principalmente, por polímeros extracelulares, productos salivales y exudados gingivales.¹¹⁵

Cuando la higiene supragingival no es mantenida adecuadamente, se desarrolla la placa dental por una interacción dinámica bacteriana en el interior de la placa, la cual llega a su máximo desarrollo con el establecimiento de una comunidad con una microbiota característica. Los microorganismos en la placa supragingival, como *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*, se nutren de componentes salivales y de los

alimentos, produciendo tempranamente ácidos orgánicos a partir de carbohidratos. La placa subgingival se forma a expensas de la placa supragingival, y una vez establecida, producirá y liberará lipopolisacáridos (LPS) y peptidoglicanos entre otras sustancias. Las bacterias periodontopatógenas de la placa subgingival son principalmente proteolíticas, asacrolíticas o bacterias de débil fermentación. Reciben los componentes de fluidos crevicular gingival y fluido inflamatorio, incrementando en número, y produciendo varios tipos de exotoxinas y enzimas proteolíticas, cuya acción resulta en una gran destrucción periodontal.

El proceso dinámico en la génesis del biofilm bacteriano subgingival tiene las siguientes etapas, brevemente:

- Bacterias cocáceas Gram positivo se unen a la película dental adquirida en la superficie del diente.
- Las células crecen en número y se esparcen sobre la superficie dentaria actuando como colonizadores primarios.
- Comienza un proceso de agregación entre células bacterianas de la misma especie o de especies diferentes. La comunidad que crece dentro del biofilm, constituye la sucesión primaria.

- El microambiente interno de la comunidad cambia de aeróbico a anaerobio, a consecuencia del crecimiento bacteriano. La comunidad se reorganiza, y se establece la sucesión secundaria.
- El microambiente interno de la comunidad se hace cada vez más anaeróbico, y la comunidad bacteriana se reorganiza nuevamente.
- Finalmente, se establece una comunidad estable, formada por una amplia gama de especies, llamada comunidad clímax.

El biofilm de la placa supragingival adherido a la superficie del diente está dominado por especies de bacterias cocáceas y bacilares facultativas Gram positivo, de los géneros *Streptococcus* y *Actinomices*.¹¹⁶

Se ha visto que en encías saludables y en sacos con tratamientos periodontales exitosos, existe una microbiota predominantemente compuesta por organismos facultativos Gram positivo como *Streptococcus* y *Actinomyces*. Las bacterias Gram positivo muestran poco o ningún potencial periodontopatógeno y ayudan a proteger en contra de la colonización de patógenos periodontales. Sin embargo, la placa supragingival contiene muchos productos bioactivos, como ácidos orgánicos fermentados, componentes sulfurosos, enzimas, peptidoglicanos, y LPS. Estos componentes pueden difundir hacia la superficie del epitelio gingival e incrementar el fluido crevicular gingival y el fluido inflamatorio del tejido periodontal. Este aporte nutricional extra, hace que en hospederos

susceptibles las bacterias proteolíticas en la placa, expandan su nicho ecológico y produzcan proteasas, acelerando la destrucción tisular, y creando así las condiciones óptimas para el establecimiento de la placa subgingival. Estos descubrimientos sugieren que las proteasas producidas por *P. gingivalis*, *B. forsythus*, y *T. denticola*, podrían estar involucradas en la iniciación de la enfermedad.¹¹⁷

La placa subgingival puede ser de 3 tipos: adherida, libre, y asociada al epitelio. La placa subgingival adherida, está asociada a la superficie dentaria y está compuesta por bacilos y cocos Gram positivo. Estas poblaciones sobreviven bajo limitadas condiciones anaeróbicas y nutricionales, y son relativamente estables en la placa subgingival. Este tipo de placa está también asociada con el depósito de cálculo y caries radicular. La placa subgingival libre está dominada por bacilos móviles y Gram negativo, los que se extienden hasta la frontera de la placa más apical. Esta parece ser el área más bioactiva, porque una gran cantidad de fluido crevicular inflamatorio es excretado del tejido periodontal. Los periodontopatógenos *P. gingivalis* y *T. denticola* son considerados causantes de inducir y acelerar el proceso inflamatorio. La placa asociada al epitelio está débilmente unida al epitelio gingival, y está conformada por bacilos Gram negativo y móviles. Estudios inmunológicos han revelado que *Prevotella intermedia* y *Prevotella nigrescens*, están entre los principales miembros de la comunidad asociada al epitelio. Se considera que este tipo de placa juega un importante rol en la

patogénesis de la periodontitis, y que está especialmente involucrada en la invasión bacteriana del tejido conectivo. Estos tres tipos de placas subgingival están estrechamente relacionadas y constituyen el ecosistema de la comunidad microbiana subgingival.¹¹⁸

De placa supragingival a subgingival, hay una significativa disminución de Streptococci y especies de Actinomyces, acompañada por un incremento de *Tannerella forsythensis* (*Bacteroides forsythus*), *Porphyromonas gingivalis*, y *Treponema denticola*.²²

Las lesiones periodontales son por lo tanto, causadas por un grupo de patógenos más que por una sola especie patógena, y los patógenos más relacionados con la periodontitis son principalmente originarios de la cavidad oral. Pero se ha demostrado que microorganismos superinfectantes tales como bacilos entéricos Gram negativo, pseudomonas, staphylococcus, levaduras, también habitan los sacos periodontales.¹¹⁹

Actinobacillus actinomycescomitans, *Porphyromonas gingivalis* y *Tannerella forsythensis*, han sido fuertemente asociadas con periodontitis crónica, progresión de la enfermedad y terapia periodontal no exitosa.²²

A su vez, periodontitis agresiva está asociada con una alta proporción de anaerobios (90%), organismos Gram negativo (75%), y espiroquetas (30%). La infección podría ser causada por un número limitado de especies bacterianas, entre ellas, *Actinobacillus actinomycescomitans*,

Porphyromonas gingivalis, *Dialister pneumosintes*, *Tannerella forsythensis* y *Treponema denticola*. Otros bacilos anaerobios Gram negativo, algunas bacterias Gram-positivo, e incluso, bacilos entéricos/*pseudomonas* podrían tener un rol en la etiopatogenia de la periodontitis agresiva.¹¹⁷

Porphyromonas gingivalis es considerado por tanto, como uno de las especies más fuertemente asociadas con periodontitis crónica y periodontitis agresiva,²¹ y usualmente está entre los más tardíos colonizadores de la cavidad oral, requiriendo de organismos antecesores que creen las condiciones medioambientales necesarias, para su adherencia, suministrando sustratos para su crecimiento, y reduciendo los niveles de oxígeno a niveles bajos, que es lo que requiere para crecer y sobrevivir esta especie anaerobia estricta.¹¹³

2.2.3 Porphyromonas Gingivalis

Porphyromonas gingivalis es una especie de bacilos Gram negativo pequeño (cocobacilos), no móvil, anaerobio estricto, asacarolítico, que forma colonias uniformes de coloración verdosas, pardas o negras debido a la hemina que almacena en la superficie celular¹²⁰ que aprovecha las condiciones que da el huésped para generar mayor daño. Esta bacteria produce varios factores de virulencia^{121, 122} así como su capacidad de invadir células periodontales, dándose una protección contra el sistema de defensa del huésped.^{123, 124}

Algunos de los tipos poseen actividad proteolítica, como por ejemplo, *Porphyromonas gingivalis* y *Porphyromonas macacae*, otros son relativamente no proteolíticos. Cuando crecen en complejos carbohidratados (excepto *Porphyromonas gingivalis asacarolítica*) y proteínas, los principales productos de fermentación son nbutirato, propionato y acetato, y en menor cantidad iso-valerato, iso-butirato, succinato y fenilacetato. Estos productos finales explicarían muchos de los malos olores asociados con infecciones orales.¹²⁰

Como se mencionó anteriormente, *P. gingivalis* es un importante miembro de la microbiota periodontal, involucrado tanto en la progresión de la periodontitis, como en los procesos de destrucción de hueso y tejido,¹²⁰ también, puede producir severas infecciones extraorales, incluyendo mediastinales, de planos faciales, cerebro y abscesos pulmonares,¹²⁵ enfermedades cardíacas,¹²⁶ parto prematuro y bajo peso al nacer.¹²⁷

2.2.3.1 Taxonomía

El género *Bacteroides*, agrupó en su primera clasificación, un conjunto de bacterias heterogéneas, con características de ser anaerobios obligados, gram negativo, no esporulados y de forma bacilar.¹²⁸

Con la aplicación de nuevas técnicas de identificación a base de biología molecular, como el ADN-ADN hibridación,¹²⁹ y estudio de sus características bioquímicas, se pudo identificar un grupo homogéneo de

especies a partir de los bacteroides, llamados ahora Porphyromonas, que en sus inicios estuvo formando por 3 especies, *P. gingivalis*, *P. asaccharolyticus* y *P. endodontales*.^{128, 129, 130}

Estudios posteriores a base de la secuencia de rRNA de 16S, han alejado más genealógicamente del género Bacteroides, conociéndose en la actualidad alrededor de 12 especies, habiendo una, *P. Catoniae*, que es sacarolítica.¹³¹

2.2.3.2 Nutrición

Porphyromonas gingivalis es una especie proteolítica, anaerobia estricta, por lo que coloniza sitios en donde la tensión de oxígeno es baja, pero en los cuales hay substratos abundantes en nitrógeno. El ecosistema subgingival proporciona un medioambiente ideal para esta especie, ya que, el potencial redox es bajo (y más bajo aun en sacos periodontales), y posee nutrientes endógenos ricos en péptidos y aminoácidos.¹³¹

P. gingivalis tiene un requerimiento obligado de hierro para crecer. Sin embargo, cuando ocurre una falta de hierro en el sistema de poros de la bacteria (sideporos, los cuales quelan hemina) utiliza hemina (hierro protoporfirina IX). Los niveles de hemina en boca son variables y el sangramiento, como resultado de la inflamación gingival, elevaría su concentración subgingival, de modo que este puede ser un factor que

predispone a la acumulación de esta bacteria. La hemina que se acumula en la membrana extracelular actúa como "basurero" de oxígeno ayudando a mantener un microambiente anaerobio.¹¹³

2.2.3.3 Morfología y estructura

P. gingivalis es un bacilo corto o cocobacilo, que mide de 0.5 - 0.8 μm x 1 - 3.5 μm ,¹²⁹ anaerobio estricto, gram negativo, siendo considerado un comensal en la cavidad oral.¹¹³ Su pared celular presenta a nivel de la membrana externa las endotoxinas, son capsulados, no esporulados, sin flagelos y abundantes fimbrias de diferentes tipos. A nivel superficial presenta vesículas que contienen una variedad de enzimas que juegan un rol importante en su virulencia. Así también produce múltiples enzimas con capacidad de degradar compuestos proteicos.^{113, 120, 132}

2.2.3.4 Factores de virulencia

Cápsula

Existen macromoléculas en la superficie de las bacterias que confieren estabilidad estructural y que cumplen un rol importante en el reconocimiento e interacción con el hospedero.¹³³

En bacterias patógenas, las macromoléculas de superficie también forman una barrera defensiva que le permiten evadir respuesta inmune. En este contexto, los polisacáridos capsulares cumplen un rol importante en la

mantención de la integridad de la célula en ambientes con alta presión inmune.¹³³

La cápsula de *P. gingivalis* se compone principalmente de glucosa, glucosamina, galactosa, 2-acetamido-2-deoxy-D-glucosa, galactosamina y los ácidos galactosaminurónico, manurónico, glucorónico y galacturónico.¹³⁴ Y sobre la base de su inmunogenicidad se han descrito 6 serotipos capsulares (K) diferentes, denominados K1, K2, K3, K4, K5 y K6. Esta juega un rol importante en la evasión del sistema inmunológico, eludiendo la fagocitosis, opsonización y accionar del complemento.^{131, 135, 136, 137}

Endotoxina (LPS)

El LPS de *P. gingivalis* contiene 3 componentes: polisacáridos (exterior), oligosacáridos (centro) y lípido A (interior)¹³⁸. Durante la enfermedad, *P. gingivalis* libera vesículas que contienen LPS, las que pueden invadir los tejidos periodontales y activar la producción de citoquinas en macrófagos, fibroblastos, queratinocitos y células endoteliales.¹³⁹

Las LPS están presentes en la membrana externa de la bacteria, compuesta en parte por el lípido A, que estaría participando en la interrupción de la homeostasis inmunológica del huésped,¹⁴⁰ ocasiona inflamación gingival, asociada con la destrucción del tejido conectivo y la reabsorción del hueso alveolar por activación de osteoclastos y causa la liberación de prostaglandinas E₂, así como un incremento de IL18 y IL1B.^{113, 135, 140, 141}

Vesículas de membrana externa

Son sacos cerrados que se encuentran a un nivel más externo de la bacteria, presentan en su interior numerosas enzimas como; fosfolípasa C, proteasas, fosfatasa alcalina, hemolisinas, lipopolisacáridos. Estas son liberadas, produciendo daño a las células periodontales y neutrófilos.^{113, 142, 143}

Hemaglutininas

Son proteínas codificadas por el gen *hag* y estas pueden ser 5 de A-E, promueven la colonización por mediación de la unión bacteriana a receptores oligosacáridos en células humanas.^{113, 135}

Fimbrias

La fimbria es una estructura filamentosa localizada en la superficie de *P. gingivalis* que le permite al microorganismo invadir los tejidos periodontales y colonizar la cavidad oral.¹⁴⁴

Presentes en forma peritrica de 0.3 a 3.0 μ m de largo y 5 nm de ancho, compuestos por monómeros de fimbrilina, codificados por el gen *fimA*, pudiéndose clasificar en 6 variantes, del tipo I al V y el Ib. Estas presentan capacidad de unirse a diferentes sustratos, moléculas, y células, como epitelial, fibrinógeno, fibronectina, lactoferrina. A su vez presenta propiedades quimiotácticas y de inducción de citoquinas.^{113, 135}

En pacientes afectados con periodontitis crónica, los genotipos de *P. gingivalis* más frecuentemente detectados son el tipo II y IV¹⁴⁵ mientras que en adultos sanos el genotipo más prevalente es el tipo I.¹⁴⁶

Proteínasas cisteinproteasas

Son compuestos bacterianos que proporcionan nutrientes para el crecimiento bacteriano, produciendo un daño colateral al huésped, degradando colágeno de diferentes tipos. Estas proteínas son llamadas gingipainas, produciendo el 85 % de la actividad proteolítica generada por *P. gingivalis* y el 100 % de la actividad tipo tripsina.¹³⁵

Las *gingipainas* son un grupo de proteasas producidas por *P. gingivalis* pertenecientes al grupo de *trypsin-like cystein proteinases*. Las gingipainas *RgpA* y *RgpB* son codificadas por los genes *rgpA* y *rgpB*, respectivamente, y son específicas para péptidos ricos en arginina (Arg- Xaa). Por otro lado, la gingipaina *Kgp* está codificada por el gen *kgp* y es específica para péptidos ricos en lisina (Lys-Xaa).¹³³

RgpA y *Kgp* son complejos que contienen dominios de separación catalítica y de adhesión hemaglutinínico; mientras que *RgpB* sólo presenta un dominio de catálisis.^{133, 147} *RgpB* determina el desarrollo del edema mediante la activación de la vía kalikreína/quinina y la infiltración por neutrófilos mediada por la activación de los factores quimiotácticos del complemento,^{148,}

¹⁴⁹ En cambio, Kgp y RgpA controlan el sangrado gingival a través de la degradación del fibrinógeno/fibrina.¹⁴⁸

RgpA y RgpB son capaces de inactivar citoquinas y sus receptores, estimular la agregación plaquetaria, atenuar la actividad antibacteriana de los neutrófilos por medio de la inhibición del receptor de LPS, incrementar la permeabilidad vascular y la apoptosis de los queratinocitos gingivales y destruir macrófagos CD14+.¹⁵⁰

En el fluido gingival crevicular de pacientes con periodontitis crónica RgpA y RgpB se asocian al aumento de los neutrófilos en los sitios periodontales infectados y Kgp, RgpA y RgpB al sangrado gingival.^{148, 149}

Proteínas no cisteinproteasas

Estas son la colagenasa, proteasa,¹⁵¹ hemaglutinina,¹¹³ una enzima tipo convertora de endotelina, una dipeptidilpeptidasa,¹⁵² y la periodontaina, esta última, degrada las proteínas desnaturalizadas y los polipéptidos.¹³⁵

Inductor de metaloproteinasas de la matriz

No es un producto generado por *P. gingivalis*, pero si lo induce, para que sea producida por fibroblastos, leucocitos y macrófagos. Estas metaloproteinasas degradan la mayoría de moléculas de la matriz extracelular, como el colágeno, fibronectina y la laminina.^{113, 135} *P. gingivalis* inactiva los

inhibidores tisulares de metaloproteinasas, específicamente el tipo 1, que tiene mucha relación con la destrucción del colágeno tipo I y fibronectina.¹³⁵

2.2.3.5 Fisiopatología

P. gingivalis es considerado un colonizador secundario, comensal del surco gingival, que llega por contagio o transmisión por individuos infectados, por medio de la saliva principalmente.¹⁵³ Su capacidad de adherirse principalmente por sus fimbrias peritricas tipo Ib, II así como por sus vesículas de membrana, hemaglutininas, cápsula, le permiten dar el primer paso en la colonización del surco, poder adaptarse e invadir las células epiteliales en un periodo aproximado de 20 minutos, pudiendo replicarse dentro de ellas y diseminarse a las células de alrededor.

Esta característica de invadir la célula, le da la capacidad de evadir las defensas del huésped. Así también su capacidad de degradar diversas proteínas, componentes del surco gingival, ligamento periodontal y hueso alveolar, además de alterar la respuesta innata y específica del anfitrión.

A todo esto se suma un factor huésped, que ante la presencia de esta bacteria, activa una diversidad de respuestas que pueden incrementar el proceso inflamatorio, presente en el surco, haciendo crónico el proceso de destrucción del periodonto.¹⁵⁴

2.2.4 Clorhexidina

2.2.4.1 Historia

La clorhexidina se desarrolla en la década de los 40 por Imperial Chemical Industries en Inglaterra por científicos en un estudio contra la malaria, aunque nunca fue utilizada con este fin. En ese momento los investigadores fueron capaces de desarrollar un grupo de compuestos denominados polibiguanidas que demostraron tener un amplio espectro antibacteriano y salió al mercado en 1954 como antiséptico para las heridas de la piel.¹⁵⁵ Posteriormente comenzó a utilizarse en medicina y cirugía tanto para el paciente como para el cirujano. En odontología empezó a utilizarse para desinfección de la boca y en endodoncia. El estudio definitivo que introdujo la clorhexidina en el mundo de la periodoncia, fue el realizado por Løe y Schiott en 1970 donde se demostró que un enjuague de 60 segundos dos veces al día con una solución de gluconato de clorhexidina al 0.2% en ausencia de cepillado normal, inhibía la formación de placa y el desarrollo de gingivitis.¹⁵⁵

2.2.4.2 Estructura y características químicas

La clorhexidina es una molécula bicatiónica simétrica, es un dímero proguanil por lo que decimos que es una bisguanida, la cual está conectada por una cadena central hexametileno. En cada extremo se enlaza un radical paraclorofenil (2 anillos 4 clorofenil), resultando su nombre completo: paraclorofenilbiguanida.

Este compuesto es una base fuerte dicatiónica a PH superior a 3.5 con dos cargas positivas en cada extremo del puente hexametileno. Es esta naturaleza dicatiónica la que lo hace extremadamente interactiva con los aniones, lo que es relevante para su eficacia, seguridad, efectos secundarios colaterales y su dificultad para formularla en productos. Aunque es una base, la clorhexidina se mantiene más estable en su forma de sal y la preparación más común es la sal de digluconato por su alta solubilidad en agua.¹⁵⁵

2.2.4.3 Mecanismo de acción

La clorhexidina se une fuertemente a la membrana celular bacteriana, lo que a bajas concentraciones produce un aumento de la permeabilidad con filtración de los componentes intracelulares incluido el potasio (efecto bacteriostático). En concentraciones más altas produce la precipitación del citoplasma bacteriano y muerte celular (efecto bactericida). En boca se adsorbe rápidamente a las superficies de contacto, incluidos los dientes con película adquirida, proteínas salivales y a la hidroxiapatita. La clorhexidina adsorbida se libera gradualmente en 8-12 horas en su forma activa. Después de 24 horas aún pueden recuperarse concentraciones bajas de clorhexidina, lo que evita la colonización bacteriana durante ese tiempo. Su PH óptimo se encuentra entre 5.5 y 7.0. En función del PH ejerce su acción frente a diferentes bacterias. Con un PH entre 5.0 y 8.0, es activa frente a bacterias Gram+ y Gram-¹⁵⁶.

El efecto antiplaca se produce a través de cuatro mecanismos:¹⁵⁶

1. La clorhexidina bloquea los grupos ácidos libres de las glicoproteínas salivales (mucinas), las cuales forman la película adquirida que permitirá la formación de la placa bacteriana, siendo ésta su primera capa, no permitiendo la formación de la misma.

2. La carga iónica positiva de la clorhexidina atrae a la superficie microbiana de carga negativa, a lo que contribuye el PH del medio, el cual es neutro o básico, permitiendo que los microorganismos se unan a las moléculas de clorhexidina y no se adhieran a la película adquirida.

3. La clorhexidina también destruye la placa formada al competir con el ión calcio, factor coadyuvante de la formación y crecimiento de la placa bacteriana que actúa como una molécula de enlace que permite a las bacterias fijarse a la película adquirida sin impedimentos. Cuando la clorhexidina se une al ión calcio, impide la unión del mismo a las bacterias.

4. A altas concentraciones la clorhexidina produce tras unirse a la pared bacteriana, cambios electroforéticos que producen una precipitación citoplasmática que conlleva la muerte celular.

2.2.4.4 Farmacocinética

Los estudios farmacocinéticos de clorhexidina, indican que aproximadamente el 30 % del principio activo, se retiene en la cavidad oral después del enjuague. La clorhexidina retenida se libera lentamente en los fluidos orales.

Estudios realizados en animales y en humanos, demuestran la escasa absorción del fármaco en el tracto gastrointestinal.

Los niveles plasmáticos de clorhexidina alcanzan un pico máximo de 0.206 microgramos por gramo en humanos, 30 minutos después de la ingestión de 300 mg de clorhexidina. No se encontraron niveles, detectables en plasma de clorhexidina después de 12 horas de la ingesta. La excreción de clorhexidina se realiza fundamentalmente por las heces (90 %); menos del 1 % se excreta por la orina.¹⁵⁶

2.2.4.5 Concentraciones

La clorhexidina suele presentarse en dos concentraciones, al 0.12 % y al 0.2 %, se recomienda realizar un buche con 10ml de producto a una concentración del 0.2 % y de 15ml al 0.12 %, esto es debido a la dosis total de clorhexidina ya que 10ml al 0.2 % libera 20mg y 15ml al 0.12 % libera 18mg, observándose que los resultados con ambas formulaciones son igual de efectivos.¹⁵⁶

2.2.4.6 Medios de presentación y formas comerciales

La eficacia de clorhexidina depende de su forma de presentación. Así encontramos: Colutorios, dentífricos, geles, barnices, aerosoles, depósito de liberación lenta, chicles con clorhexidina. etc. Siendo el método más utilizado en colutorio para la mayoría de situaciones como coadyuvante de la higiene oral. Su forma de presentación más común es en solución al 0.12 % para

enjuagues de 15 ml durante 30 segundos y al 0.2 % para enjuagues de 10 ml.¹⁵⁶

2.2.4.7 Indicaciones

Esta indicado como agente antiplaca, para el tratamiento de gingivitis y periodontitis, en cirugía periodontal, como irrigador en alveolitis, como desinfectante en estomatitis por dentaduras (candidiasis subplaca), como tratamiento de ulceraciones aftosas y como coadyuvante en halitosis. Su uso se recomienda dos veces al día, como enjuague oral debe ser usado por lo menos 30 segundos. No se debe ingerir y debe expectorarse después de enjuagarse.¹⁵⁶

2.2.4.8 Efectos secundarios

El efecto colateral más frecuente en la utilización de clorhexidina es la tinción de dientes, partes blandas de la mucosa, dorso de la lengua y restauraciones. Otro efecto secundario de los enjuagues con clorhexidina es la alteración del sentido del gusto como la hipogeusia y disgeusia, también se observa sensación de quemazón, sequedad de tejidos blandos, y lesiones descamativas y ulcerosas de la mucosa gingival. Además un efecto colateral frecuente reflejado por los usuarios de colutorios de clorhexidina es su desagradable sabor amargo.¹⁵⁶

2.3 Definición de términos básicos:

- **Actividad antibacteriana:** Capacidad de matar, destruir, inactivar bacterias, impedir su proliferación y/o impedir su acción patógena.
- **Efectividad:** la capacidad o facultad para lograr un objetivo o fin deseado, que se han definido previamente, y para el cual se han desplegado acciones estratégicas para llegar a él.
- **Estudio in vitro:** in vitro (latín: dentro del vidrio), se refiere a una técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo.
- **Extracto etanólico:** Extracto con olor característico, obtenido a partir de materia prima desecada de origen vegetal, por maceración o percolación. en contacto con etanol, seguida de la eliminación de dicho solvente por un procedimiento físico.
- **Halo de inhibición:** Es una medida de la potencia del antibiótico frente al germen, en este caso el extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum*.
- **Porphyromonas gingivalis:** bacilos pleomórficos o cocobacilos, inmóviles, no esporulados. Carecen de metabolismo fermentativo, por lo que son llamadas asacarolíticas, utilizan substratos nitrogenados como fuente de energía. Comprende doce especies, pero solo tres se han aislado de la cavidad bucal del hombre, *P. gingivalis*, *P. endodontalis* y *P. asaccharolytica*.

2.4 Hipótesis

Hi: EL extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey en diferentes concentraciones presenta efectividad antibacteriana sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.

Ho: EL extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey en diferentes concentraciones no presenta efectividad antibacteriana sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.

2.5 Variables

➤ **Variable Independiente:**

Extracto etanólico del *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey

➤ **Variable Dependiente:**

Efectividad antibacteriana del *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.

➤ **Variables control**

Control positivo

- Gluconato de Clorhexidina 0.12%

Control negativo

- Dimetilsulfóxido (DMSO)
- Agua destilada

2.6 Operacionalización de Variables

VARIABLES	DEFINICIÓN	DIMENSIÓN	INDICADOR	ESCALA	VALOR
Extracto Etanólico de <i>Pelargonium x hortorum</i> L.H. Bailey (Variable Independiente)	Sustancia hidroalcohólica que contiene el extracto de <i>Pelargonium x hortorum</i>	Diferentes concentraciones	Concentración	Ordinal	50mg/ml 25mg/ml 12.5mg/ml 6.25mg/ml
Efectividad antibacteriana (Variable Dependiente)	Capacidad para destruir o inhibir el crecimiento bacteriano	Efectividad antibacteriana de las soluciones del extracto etanólico a las concentraciones de (50-25-12.5-6.25)mg/ml Sobre cepas de <i>P.gingivalis</i> .	Dimensión del diámetro del halo de inhibición en prueba de difusión en agar con Pozos.	Intervalo	mm

CAPITULO III.

MARCO METODOLÓGICO

3.1 Nivel y Tipo de Investigación.

3.1.1 Nivel de investigación: Explicativo.

3.1.2 Tipo de investigación: Aplicada.

3.2 Diseño de la Investigación.

- **Experimental.** Porque se manipuló intencionalmente una o más variables independientes (supuestas causas-antecedentes), para analizar las consecuencias que la manipulación tuvo sobre una o más variables dependientes (supuestos efectos-consecuencias).
- **Comparativo.** Porque permite conocer la relación o grado de asociación que existe entre dos o más conceptos, categorías o variables en un contexto en particular.
- **In vitro.** Porque según la técnica del experimento se realizó en un ambiente controlado en un laboratorio, fuera de un organismo vivo.

Según el alcance de la investigación:

- **Cuantitativo.** Por la presencia de datos numéricos y la aplicación de pruebas estadísticas.

Según el tiempo de ocurrencia de los hechos y registros de información:

- **Prospectivo.** Porque los datos serán registrados conforme a la ocurrencia de los hechos
- **Transversal.** Porque la recolección de datos fue tomada en solo momento.

Según el control que tiene el investigador de las variables en grupos:

- **Controles.** Porque la identificación de las sustancias control, le dan mayor confiabilidad a las lecturas del estudio.

Creswell (2009) denomina a los **experimentos** como estudios de intervención, porque un investigador genera una situación para tratar de explicar cómo afecta a quienes participan en ella en comparación con quienes no lo hacen. Es posible experimentar con seres humanos, seres vivos y ciertos objetos.¹⁵⁷

G₁	X₁	O₁
G₂	X₂	O₂
G₃	X₃	O₃
G₄	X₄	O₄
G₅	—	O₅
G₆	—	O₆
G₇	—	O₇

G = grupos

X = estímulo o condición experimental

— = sin estímulo (control o testigo)

O = medición u observación

3.3 Población y muestra

3.3.1 Población

Conformada por bacterias periodontopatógenas Gram negativas.

3.3.2 Muestra

Tipo de muestra

Muestreo no probabilístico intencional, antes de incluir las cepas bacterianas para el estudio establecimos si cumplían con los criterios de inclusión.

Unidad de muestra

Cepa Estandarizada de *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277), procedentes de la American Type Culture Collection.

Hojas de *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey, obtenidas del jardín botánico de plantas medicinales del Instituto Nacional de Salud.

Unidad de análisis

Conformada por 25 cultivos bacterianos de las cepas de *Porphyromonas Gingivalis*.

3.3.2 Criterios de Selección de datos:

➤ **Criterios de Inclusión:**

- Bacterias periodontopatógenas anaerobias estrictas Gram negativa.
- Cepa bacteriana de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277.

➤ **Criterios de Exclusión:**

- Cepas que no pudieran ser cultivadas, no pertenecientes al género *Porphyromonas gingivalis*.

3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

➤ **Recolección de la planta de *Pelargonium x hortorum*.**

La planta *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey fue recolectada en el jardín botánico de plantas medicinales del **Instituto Nacional de Salud** ubicado en el jirón Cápac Yupanqui 1400 distrito de Jesús María, provincia de Lima Metropolitana, departamento de Lima-Perú a 133 msnm. El material vegetal recolectado se envolvió en papel kraft y se introdujo en bolsas plásticas para luego ser trasladada a las instalaciones del laboratorio de Farmacognosia de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (ANEXO N° 1, pag. 138).

➤ **Identificación de la planta de *Pelargonium x hortorum*.**

Para la identificación taxonómica del material recolectado se tomó un ejemplar teniendo en cuenta que presentara flor, hojas, tallo, raíces en buen estado, se retiró la tierra adherida a ella y se colocó en una bolsa plástica para ser trasladada al herbario de San Marcos (USM), Museo de Historia Natural de la Universidad Mayor de San Marcos. Al momento de recolectar se realizó anotaciones de observaciones o detalles, tales como: fecha, localización (país, provincia, distrito, lugar), nombre común (Geranio común), indicamos el hábito (en este caso era un arbusto); igualmente, se indicó aspectos cualitativos de la hoja (redondeada, color verde con una zona oscura) tallo leñoso y flores de color rojizo. (ANEXO N° 2, pag. 141).

➤ **Selección y lavado de la planta de *Pelargonium x hortorum*.**

Se procedió a separar manualmente las hojas y flores del tallo (sólo se utilizaron hojas) y a retirar la tierra y arena adherida, también se retiró órganos deteriorados y con señales de ataque de insectos y/o hongos, dicho procedimiento se realizó con sumo cuidado para evitar el deterioro de la planta, luego se pesaron en una balanza común, hasta aproximadamente 1 kg del material vegetal, posteriormente se lavó cuidadosamente a corriente de agua.

➤ **Secado de las hojas de *Pelargonium x hortorum*.**

Se realizó una nueva selección del material vegetal, separando el peciolo de la hoja propiamente dicha, se volvió a pesar el material vegetal obteniendo 500 g del mismo. Se dividió las hojas en dos porciones iguales, cada porción fue colocada y empaquetada con papel kraft, y finalmente se introdujeron los paquetes a la estufa a temperatura de 40 °c por un periodo de 5 días.

➤ **Reducción de tamaño de las hojas secas de *Pelargonium x hortorum*.**

Luego de 5 días de secado, las hojas secas de *Pelargonium x hortorum* fueron reducidas de tamaño manualmente con la ayuda de un mortero y pilon.

➤ **Obtención del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* (extracción de la droga).**

Una vez terminada la trituración de las hojas secas, se procedió a pesar lo obtenido en una balanza, obteniendo 66 mg de molienda, luego se introdujo en un frasco de vidrio de color ámbar y se le agregó 400 ml de etanol de 96 grados, dejándose macerar por 2 semanas agitándolo todos los días(método de maceración). Luego de 2 semanas de maceración el producto fue filtrado 2 veces con papel filtro Whatmann N° 2. Se obtuvo 250 ml de extracto purificado libre de gérmenes, el filtrado se colocó en 2

recipientes de vidrio de boca ancha (platos) y fueron llevados a la estufa a 40 °C durante 5 días hasta que el alcohol se evapore por completo, quedando solo el extracto puro; se obtuvo una masa seca de extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum*, la cantidad obtenida fue de 9.4gr, este producto se colocó en un frasco de vidrio pequeño de color ámbar para su conservación.

A partir de la masa seca de extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* se prepararon concentraciones de 6.25, 12.5, 25 y 50 mg/ml. Para obtener dichas concentraciones se pesaron en una balanza analítica 6.25, 12.5, 25 y 50 mg de extracto seco, colocados en frascos de vidrio pequeños, luego de haber pesado correctamente, se añadió 1 ml de Dimetilsulfóxido (DMSO) para la dilución del extracto seco. Dichas diluciones fueron guardadas y conservadas en refrigeración hasta el momento que se utilizaron para probar su efectividad antibacteriana sobre las cepas de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277.

➤ **Prueba de solubilidad y análisis fitoquímico**

Previo al análisis antibacteriano y a la elaboración de las diferentes concentraciones del extracto, se realizaron pruebas de solubilidad y el ensayo fitoquímico.

Para la prueba de solubilidad se utilizó 6 solventes orgánicos y agua destilada, los solventes orgánicos fueron: Etanol, Butanol, Cloroformo,

metanol, diclorometano y N-hexano; se tomo 7 tubos de ensayo a cada tubo se le agrego 1 mg de extracto de *Pelargonium x hortorum*, luego se agrego 1 ml de cada solvente, y se procedio a verificar la solubilidad (Anexo N°3, pag. 147)

El ensayo fitoquímico preliminar se realizó mediante el ensayo a la gota, con el cual se determinó cualitativamente que componentes o metabolitos presenta el extracto de *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey. Se tomó un Tubo de ensayo grande y se agrego 20 mg de extracto, luego se añadió 20 ml de etanol para disolver el extracto, una vez disuelto se tomo 9 tubos de ensayo, a los cuales se les agrego 1ml del mismo. Finalmente se realizaron los siguientes ensayos: *Felling B* (para carbohidratos), *Cloruro férrico* (para fenoles), *Gelatina* (para taninos), *Ninhidrina* (para aminoácidos libres y grupos amino), *shinoda* (para flavonoides), *Liebermann-Burchard* (triterpenoides y esteroides), *Borntrager* (para quinonas), *Dragendorff* (para alcaloides) y *Rosenheim* (para antocianinas). (Anexo N°3, pag. 148)

➤ **Siembra, cultivo de las cepas y prueba de la efectividad antibacteriana.**

Para la reconstitución de las cepas de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 fueron retiradas del vial (ATCC), los cristales liofilizados fueron sembrados por aislamiento en 5 placas de petri conteniendo agar

Schaedler, también se inoculó haciendo movimientos de rotación en medio tioglicolato (medio líquido); luego se colocaron en una jarra de anaerobiosis con un sobre generador de anaerobiosis y se incubó por un lapso 10 días a 37 °C para su reconstitución (todo procedimiento se realizó en condiciones estériles). Pasado 10 días se procedió a verificar el aspecto general del medio y la aparición de crecimiento sobre la superficie del agar o el enturbiamiento del tioglicolato; en el medio de cultivo líquido (tioglicolato) no hubo enturbiamiento ni sedimento en el fondo del tubo, en el medio sólido (agar Schaedler) se observó colonias marrón oscuro de tamaño regular, circulares y convexas con bordes enteros y superficie lisa brillante. Con la ayuda de un asa de siembra estéril se cosechó 5 colonias diferentes (una de cada placa de petri) y se diluyó haciendo movimientos de rotación en un tubo de ensayo con 6 ml de tioglicolato hasta obtener una dilución de 0,5 de Mc Farland, que es equivalente a $1,5 \times 10^8$ UFC/ml. Luego se procedió a realizar la siembra de este inóculo en las placas de Petri conteniendo agar Schaedler usando un hisopo estéril, el cual se pasó de manera uniforme sobre la superficie del agar por 2 veces (siembra por aislamiento).

Una vez realizada la siembra cada placa de petri fue señalada por su base con un plumón que sirvió como guía para la distribución de los pozos (método de Kirby-Bauer en pozos), Asimismo se enumeró cada palaca de petri para evitar confusiones en cada uno de los ensayos, para el primer

ensayo se utilizaron 10 placas y para el segundo ensayo se utilizó 15 placas. Se procedió a realizar 7 pozos de 2.5 mm de diámetro sobre el agar Schaedler (ver Anexo N° 4, pag. 153). La distribución de los pozos se realizó de la siguiente manera: 01 pozo en el centro de la placa para el agua destilada (control negativo) y 06 pozos alrededor, de los cuales 04 eran para las diferentes concentraciones del extracto de *Pelargonium x hortorum* (50mg/ml, 25mg/ml, 12.5mg/ml, 6.25mg/ml), 01 pozo para la Clorhexidina 0.12% (control positivo) y 01 pozo para el Dimetilsulfóxido (control negativo). Luego con la ayuda de una pipeta automática se aplicó 30 ul de cada solución en los pozos, dejando reposar por 15 minutos antes de proceder a incubar. Pasado 15 minutos se colocaron las placas de Petri en una jarra de anaerobiosis con un sobre generador de anaerobiosis. Luego la jarra se cerró herméticamente y se llevó a la incubadora a 37°C por tres días (72 horas). Luego de 72 horas con la ayuda de una regla milimetrada y viendo contra la luz se realizó la lectura de los halos de inhibición. Los datos obtenidos fueron descritos en una ficha elaborada por los investigadores.

El sembrado de la cepa se realizó usando un mechero Bunsen el cual brindó un área de esterilización para evitar la contaminación de las placas de Petri conteniendo el agar Schaedler.

3.5 Instrumento de recolección de datos

Para la presente investigación se elaboró un instrumento que fue llenado por los investigadores permitiendo obtener la información para el cual estuvo destinado el estudio; el mismo tuvo ciertas características y permitió realizar anotaciones que se mencionan a continuación:

- ✓ Fecha de inicio del ensayo.
- ✓ Identificación de la cepa bacteriana en estudio.
- ✓ Identificación del tipo extracto al que fue sometido la planta y de las concentraciones (en este caso se trata de extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey en concentraciones de 50, 25, 12.5 y 6.25 mg/ml).
- ✓ Identificación de las sustancias control, las cuales le dan mayor confiabilidad a las lecturas del estudio, por que permiten comparar los halos de inhibición formados.
- ✓ Identificación del número de cultivos en forma ordenada, del 1 al 25.
- ✓ A las 72 horas después de iniciado el ensayo permitió la recolección de datos. Los datos recolectados fueron de la medición en milímetros de los halos de inhibición que se formaron de manera individual alrededor de cada pozo (técnica de difusión en agar con pozos), teniendo en cuenta cada una de las concentraciones del extracto y las sustancias de control.

3.5.1 Validación de la ficha de recolección de datos.

La recolección de datos se realizó en la ficha de recolección de datos (Anexo N° 5, pag. 165) y se utilizó una técnica directa, basada en estudios anteriores y una sustentación teórica que relaciona la medición del diámetro del halo de inhibición en mm con la efectividad antibacteriana, haciendo válido nuestro instrumento de recolección de datos. Previo a ello se realizó una calibración inter examinador, entre un biólogo con experiencia y los investigadores, que analizaron diez muestras para determinar la correlación mediante el coeficiente Kappa. Así mismo, se realizó la calibración intra examinador, para ello los investigadores analizaron diez muestras por duplicado en un intervalo de 5 minutos; ambas calibraciones obtuvieron valores de kappa que indicaron una concordancia casi perfecta en las mediciones de las variables demostrando que la medición fue confiable (Anexo N° 5, pag. 164).

3.6 Técnicas de procesamiento, análisis de datos

Para el procesamiento de datos se empleó un ordenador modelo VAIO Computer. Sony Electronics Inc. con procesador AMD E-450 APU with Radeon (tm) HD Graphics 1.65 GHz. RAM 2.00 GB. Sistema operativo 32 bits. Se utilizó el programa Microsoft Excel 2010 para ordenar los datos que luego fueron procesados dentro del paquete estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) v.21.0. en español para Windows.

El análisis de datos empezó con un análisis descriptivo de la distribución de la muestra según la concentración del extracto etanólico y las variables control. En el análisis estadístico, por presentar este estudio valores cuantitativos, se realizó con las pruebas de *t de Student* y ANOVA después de comprobar la distribución normal de las muestras y de acuerdo al número de grupos a contrastar. Se consideró como parámetro de decisión, un margen de error del 5%, a un nivel de confianza del 95% para la contrastación de la hipótesis.

Las representaciones gráficas fueron realizadas en el programa Microsoft Excel 2010.

3.6.1 Pruebas de normalidad

Para contrastar los promedios del efecto antibacteriano, medidos en mm, entre las diferentes concentraciones del extracto etanólico *Pelargonium x hortorum* (geranio común) y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12%, se realizó en primer lugar una prueba estadística para determinar la distribución normal de las muestras. Los resultados de esta prueba nos ayudaron a decidir la aplicación de pruebas estadísticas paramétricas o no paramétricas.

Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra								
		50	25	12,5	6,25	Clorhexidina	Diemetil	Agua
		mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml	al 0,12%	sulfoxido	destilada
	Nº	25	25	25	25	25	25	25
Parámetros normales ^{a,b}	Media	11,440	7,180	5,500	3,680	10,320	,000	,000
	Desviación típica	,8206	,4761	,4564	,4301	1,2573	,0000 ^c	,0000 ^c
Diferencias más extremas	Absoluta	,249	,247	,263	,372	,266		
	Positiva	,167	,247	,263	,228	,174		
	Negativa	-,249	-,233	-,263	-,372	-,266		
Z de Kolmogorov-Smirnov		1,246	1,237	1,317	1,858	1,328		
Sig. Asintót. (bilateral)		,090	,094	,062	,002	,059		

a. La distribución de contraste es la Normal.

b. Se han calculado a partir de los datos.

c. La distribución no tiene varianza para esta variable. No es posible realizar la prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra.

Fente: Ficha

La prueba de Kolmogorov-Smirnov representa los valores observados frente a los esperados bajo la hipótesis nula que los grupos tienen una distribución normal. El p-valor asociado al estadístico de contraste es mayor a 0,05 en las muestras del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* (geranio común) a concentraciones de 50 mg/ml, 25 mg/ml y 12,5 mg/ml, y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12%, luego a

nivel de significancia 0,05, no se rechaza la hipótesis nula, se acepta que las muestras tienen distribución normal a excepción de la muestra que presenta una concentración de 6,25 mg/ml. Por consiguiente, se procede a realizar la transformación estadística de los datos de esta muestra para aplicar en los contrastes una prueba de estadística paramétrica. En los casos en los que se compara dos medias se utilizará la prueba *t* de Student y en los casos que vamos a comparar más de dos medias utilizaremos el Análisis de Varianza (ANOVA).

CAPITULO IV.

RESULTADOS

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* en diferentes concentraciones sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*. La muestra estuvo conformada por 25 cultivos de cepas de *Porphyromonas gingivalis*, a las cuales se aplicó el extracto de *Pelargonium x hortorum* en concentraciones de 6,25, 12,5, 25, 50 mg/ml y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12%, para analizar el diámetro del halo de inhibición medido en mm y de esta manera determinar la efectividad antibacteriana de estos compuestos.

Tabla 1. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* (geranio común) en diferentes concentraciones y las sustancias control sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.

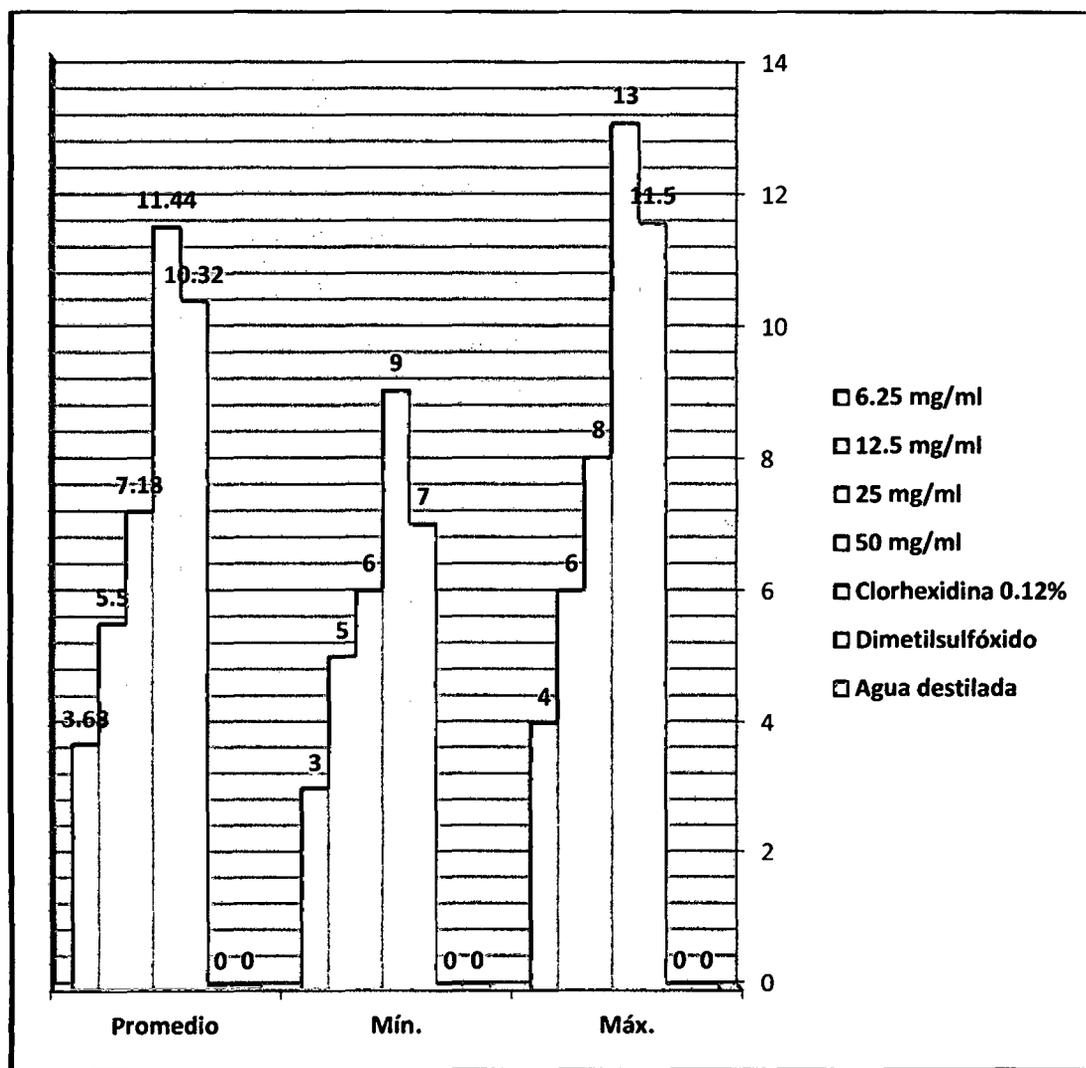
		EFECTO ANTIBACTERIANO (Diámetro del halo de inhibición en mm)					
	[mg/ml]	n	\bar{x}	DS	Mín.	Máx.	Rango
Extracto etanólico de <i>Pelargonium x hortorum</i>	6,25	25	3,68	0,43	3,0	4,0	1,0
	12,5	25	5,50	0,45	5,0	6,0	1,0
	25	25	7,18	0,47	6,0	8,0	2,0
	50	25	11,44	0,82	9,0	13,0	4,0
Sustancias control	Clorhexidina 0,12%	25	10,32	1,25	7,0	11,5	4,5
	Dimetilsulfóxido	25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Agua destilada	25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Fuente: Ficha

Comentario e interpretación

En la **tabla 1**, se observa que el promedio del diámetro del halo de inhibición cuando se aplica el extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* a una concentración de 6,25 mg/ml es de 3,68 mm, con un mínimo valor de 3 mm y un máximo valor de 4 mm; a una concentración de 12,5 mg/ml es de 5,50 mm, con un mínimo valor de 5 mm y un máximo valor de 6 mm; a una concentración de 25 mg/ml es de 7,18 mm con un mínimo valor de 6 mm y un máximo valor de 8 mm, y a una concentración de 50 mg/ml es 11,44 mm con un mínimo valor de 9 mm y un máximo valor de 13 mm. Las cepas de *Porphyromonas gingivalis* a las que se les aplicó las sustancias control no formaron diámetro del halo de inhibición en los casos del agua destilada y el Dimetilsulfóxido pero si cuando se aplicó el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% cuyo promedio fue 10,32 mm con un valor mínimo de 7 mm y un valor máximo de 11,5 mm.

Gráfico 1. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* (geranio común) en diferentes concentraciones y las sustancias control sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*



FUENTE: Tabla 1

Tabla 2. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* (geranio común) en diferentes concentraciones sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.

		EFFECTO ANTIBACTERIANO (Diámetro del halo de inhibición en mm)						<i>*p-valor</i>
Extracto etanólico de <i>Pelargonium x hortorum</i>	[mg/ml]	n	\bar{x}	DS	Mín.	Máx.	Rango	
	6,25	25	3,68	0,43	3,0	4,0	1,0	0,000
	12,5	25	5,50	0,45	5,0	6,0	1,0	
	25	25	7,18	0,47	6,0	8,0	2,0	
	50	25	11,44	0,82	9,0	13,0	4,0	

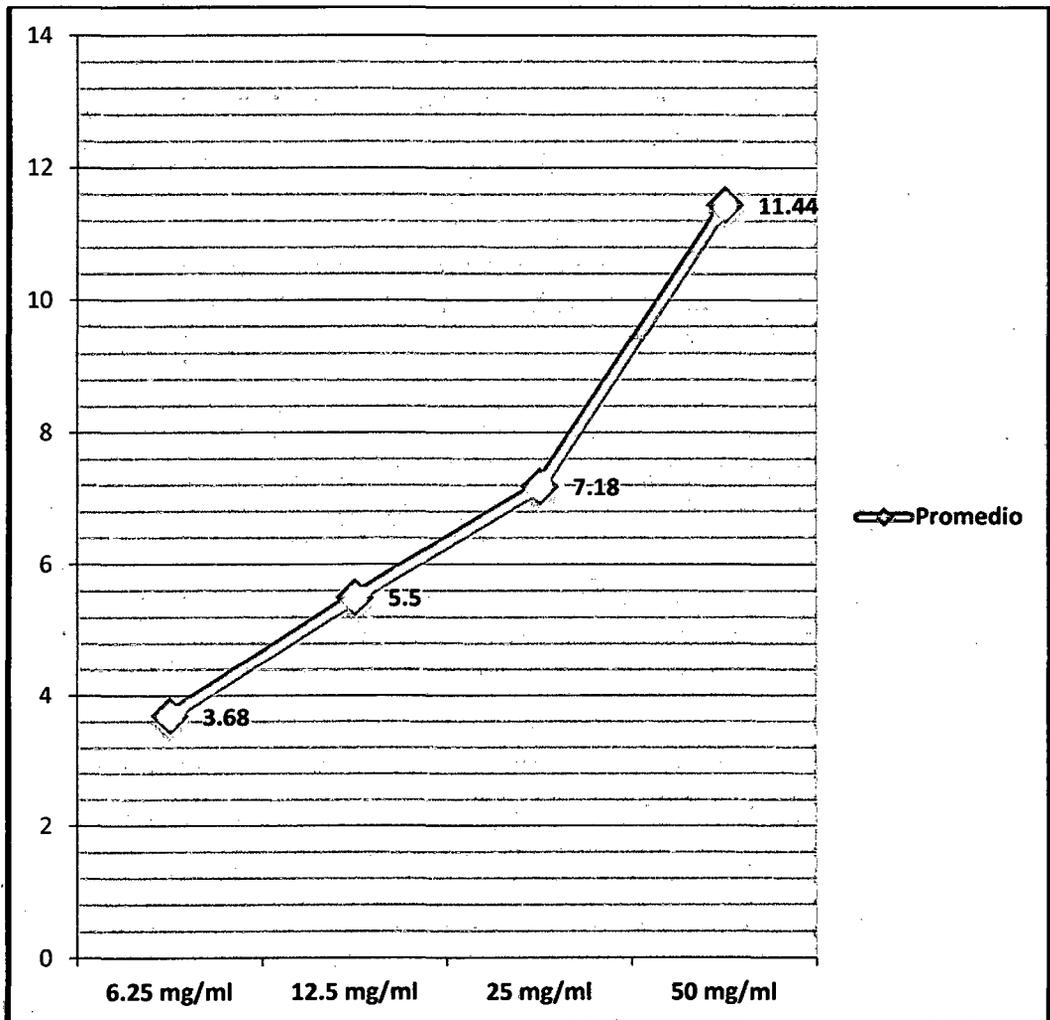
*ANOVA Fuente: Ficha

Comentario e interpretación

En la **tabla 2**, se desea comparar las medias de los diámetros de los halos de inhibición de las cepas de *Porphyromonas gingivalis* sobre las que se aplicó el extracto etanólico *Pelargonium x hortorum* en cuatro concentraciones diferentes. La

prueba del análisis de varianza (ANOVA) plantea que si las medias de los grupos establecidos fueran muy distintas entre sí, y además, la varianza dentro de cada grupo fuera pequeña (los grupos muy distintos entre sí y, dentro de cada grupo, un comportamiento muy homogéneo), la variabilidad total se debería a las diferencias entre grupos. Sin embargo, si las medias en los grupos fueran muy parecidas entre sí, la variabilidad total se debería a la variabilidad dentro de los grupos, es decir, esta prueba se basa en que la variabilidad total de la muestra puede descomponerse en la variabilidad por las diferencias entre los grupos y la que se debe a las diferencias dentro de cada grupo. Por consiguiente, la prueba de ANOVA contrasta la hipótesis nula que plantea que los grupos de las muestras poseen medias o promedios similares. El p-valor asociado al estadístico de contraste para los promedios de los diámetros de los halos de inhibición de las *Porphyromonas gingivalis* divididos en grupos de acuerdo a la concentración que se aplicó el extracto etanólico *Pelargonium x hortorum* es de 0,000, menor que 0,05 (a nivel de significancia 0,05), en consecuencia se rechaza la hipótesis nula. Es decir, existen diferencias estadísticas significativas en los promedios del diámetro del halo de inhibición de las cepas de *Porphyromonas gingivalis* de los cuatro grupos a diferentes concentraciones del extracto etanólico *Pelargonium x hortorum*; presentando el grupo de cepas de *Porphyromonas gingivalis* sobre las que se aplicó el extracto etanólico *Pelargonium x hortorum*, a una concentración de 50mg/ml, mayor diámetro del halo de inhibición (11,44 mm) demostrando mayor efectividad antibacteriana que los otros extractos de diferente concentración.

Gráfico 2. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* (geranio común) en diferentes concentraciones sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.



FUENTE: Tabla 2

Tabla 3. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* (geranio común) a la concentración de 6,25 mg/ml y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.

		EFECTO ANTIBACTERIANO (Diámetro del halo de inhibición en mm)						*p-valor
		n	\bar{x}	DS	Mín.	Máx.	Rango	
Extracto etanólico de <i>Pelargonium x hortorum</i>	6,25 mg/ml	25	3,68	0,43	3,0	4,0	1,0	0,000
	Clorhexidina 0,12%	25	10,32	1,25	7,0	11,5	4,5	

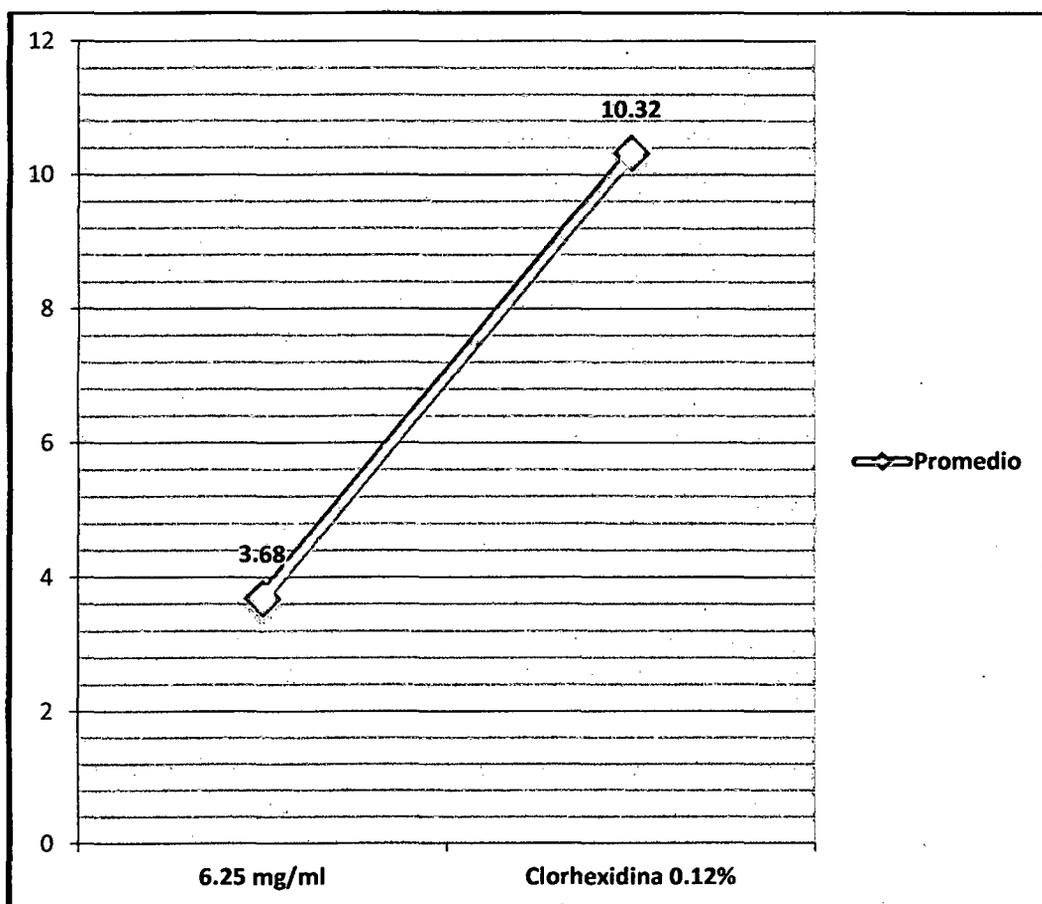
* / de Student; Fuente: Ficha

Comentario e interpretación

En la **tabla 3**, se quiere comprobar la efectividad antibacteriana del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* a una concentración de 6,25 mg/ml y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% comparando los promedios del diámetro del

halo de inhibición que formaron las cepas de *Porphyromonas gingivalis* en ambos grupos. La prueba de t de Student se utiliza para contrastar la hipótesis nula de que las muestras proceden de dos subpoblaciones en las que la media de X es la misma. El estadístico de contraste de la prueba t de Student depende de si las poblaciones presentan o no la misma varianza. En consecuencia, un paso previo al contraste de igualdad de medias es contrastar mediante la prueba de Levene, la igualdad de varianzas. El p -valor asociado al estadístico de contraste F en esta tabla es menor que 0,05 (0,004) y a ese nivel de significación se rechaza la hipótesis nula. Al rechazarse la hipótesis nula, el estadístico t adecuado para contrastar la hipótesis de igualdad de medias es en el que no se han asumido varianzas iguales (Sig. bilateral=0,000), este valor es menor que 0,05, que al nivel de significación de 0,05 se rechaza la hipótesis nula. Dado que la diferencia entre lo observado en la muestra y lo esperado en la hipótesis es estadísticamente significativa, no se puede aceptar que el promedio del diámetro del halo de inhibición formado por las cepas de *Porphyromonas gingivalis* en el grupo al que se aplicó el extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* a una concentración de 6,25 mg/ml sea igual al grupo del Gluconato de Clorhexidina al 0,12 %, presentando este último grupo un mayor diámetro (10,32 mm) que demuestra mayor efectividad antibacteriana sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.

Gráfico 3. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* (geranio común) a la concentración de 6,25 mg/ml y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.



FUENTE: Tabla 3

Tabla 4. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* (geranio común) a la concentración de 12,5 mg/ml y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Porphyromonas Gingivalis*.

		EFFECTO ANTIBACTERIANO (Diámetro del halo de inhibición en mm)						*p-valor
		n	\bar{x}	DS	Mín.	Máx.	Rango	
Extracto etanólico de <i>Pelargonium x hortorum</i>	12,5 mg/ml	25	5,50	0,45	5,0	6,0	1,0	0,000
	Clorhexidina 0,12%	25	10,32	1,25	7,0	11,5	4,5	

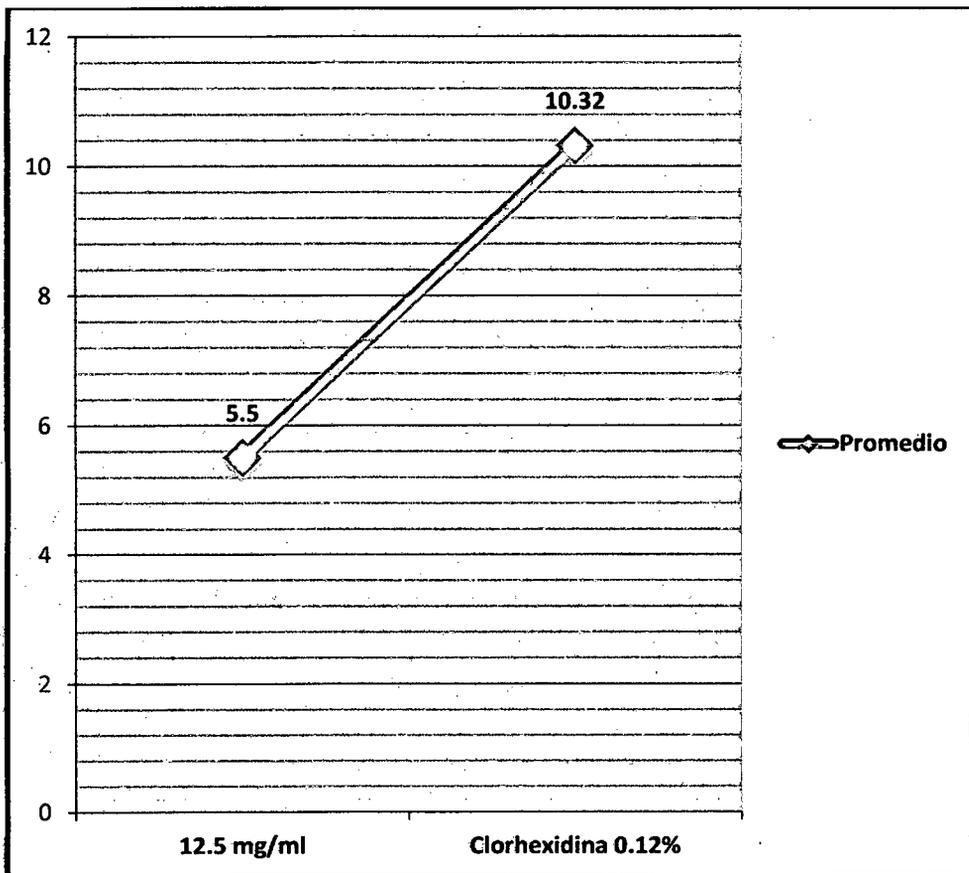
* t de Student; Fuente: Ficha

Comentario e interpretación

En la **tabla 4**, se quiere comparar la efectividad antibacteriana del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* a una concentración de 12,5 mg/ml y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% mediante los promedios del diámetro del halo de inhibición

que formaron las cepas de *Porphyromonas Gingivalis* en ambos grupos. La prueba de t de Student se utiliza para contrastar la hipótesis nula de que el promedio del diámetro del halo de inhibición obtenido cuando se aplica el extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* a una concentración de 12,5 mg/ml es el mismo que cuando se aplica el Gluconato de Clorhexidina al 0,12%. El p -valor asociado al estadístico de contraste F es menor que 0,05 (0,005) y a ese nivel de significación se rechaza la hipótesis nula. Al rechazarse la hipótesis nula, el estadístico t adecuado para contrastar la hipótesis de igualdad de medias es en el que no se han asumido varianzas iguales (Sig. Bilateral=0,000), este valor es menor que 0,05, que al nivel de significación de 0,05 se rechaza la hipótesis nula. Es decir, no se puede aceptar que el promedio del diámetro del halo de inhibición formado por las cepas de *Porphyromonas Gingivalis* en el grupo al que se aplicó el extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* a una concentración de 12,5 mg/ml sea igual al grupo que se aplicó el Gluconato de Clorhexidina al 0,12 %, presentando este último grupo un mayor diámetro (10,32 mm) que demuestra mayor efectividad antibacteriana sobre cepas de *Porphyromonas Gingivalis*.

Gráfico 4. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* (geranio común) a la concentración de 12,5 mg/ml y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Porphyromonas Gingivalis*.



FUENTE: Tabla 4

Tabla 5. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* (geranio común) a la concentración de 25 mg/ml y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.

		EFECTO ANTIBACTERIANO (Diámetro del halo de inhibición en mm)					*p-valor
		n	\bar{x}	DS	Mín.	Máx.	
Extracto etanólico de <i>Pelargonium x hortorum</i>	25 mg/ml	25	7,18	0,47	6,0	8,0	2,0
Sustancias control	Clorhexidina 0,12%	25	10,32	1,25	7,0	11,5	4,5

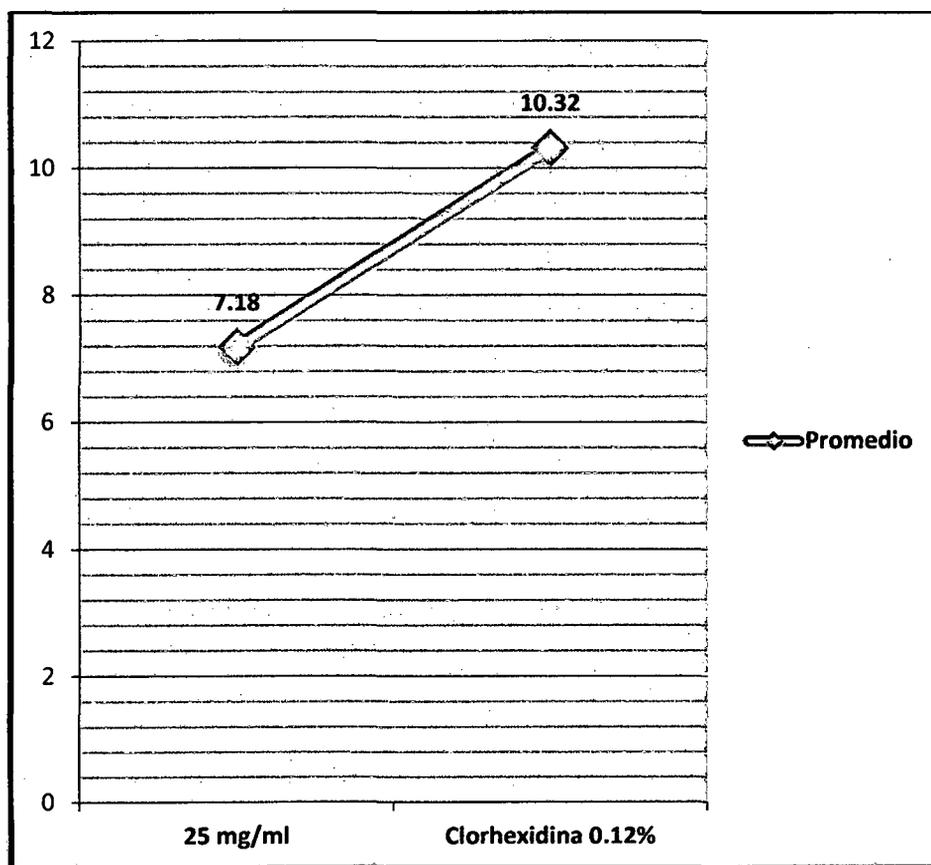
* t de Student; Fuente: Ficha

Comentario e interpretación

En la **tabla 5**, se quiere comparar la efectividad antibacteriana del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* a una concentración de 25 mg/ml y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% mediante los promedios del diámetro del halo de inhibición

que formaron las cepas de *Porphyromonas gingivalis* en ambos grupos. La prueba de t de Student se utiliza para contrastar la hipótesis nula de que el promedio del diámetro del halo de inhibición obtenido cuando se aplica el extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* a una concentración de 25 mg/ml es el mismo que cuando se aplica el Gluconato de Clorhexidina al 0,12%. El p -valor asociado al estadístico de contraste F es menor que 0,05 (0,004) y a ese nivel de significación se rechaza la hipótesis nula. Al rechazarse la hipótesis nula, el estadístico t adecuado para contrastar la hipótesis de igualdad de medias es en el que no se han asumido varianzas iguales (Sig. bilateral=0,000), este valor es menor que 0,05, que al nivel de significación de 0,05 se rechaza la hipótesis nula planteada por la prueba t . Es decir, no se puede aceptar que el promedio del diámetro del halo de inhibición formado por las cepas de *Porphyromonas gingivalis* en el grupo al que se aplicó el extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* a una concentración de 25 mg/ml sea igual al grupo que se aplicó el Gluconato de Clorhexidina al 0,12 %, presentando este último grupo un mayor diámetro (10,32 mm) que demuestra mayor efectividad antibacteriana sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.

Gráfico 5. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* (geranio común) a la concentración de 25 mg/ml y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.



FUENTE: Tabla 5

Tabla 6. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* (geranio común) a la concentración de 50 mg/ml y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.

		EFECTO ANTIBACTERIANO (Diámetro del halo de inhibición en mm)						*p-valor
		n	\bar{x}	DS	Mín.	Máx.	Rango	
Extracto etanólico de <i>Pelargonium x hortorum</i>	50 mg/ml	25	11,44	0,82	9,0	13,0	4,0	0,001
	Clorhexidina 0,12%	25	10,32	1,25	7,0	11,5	4,5	

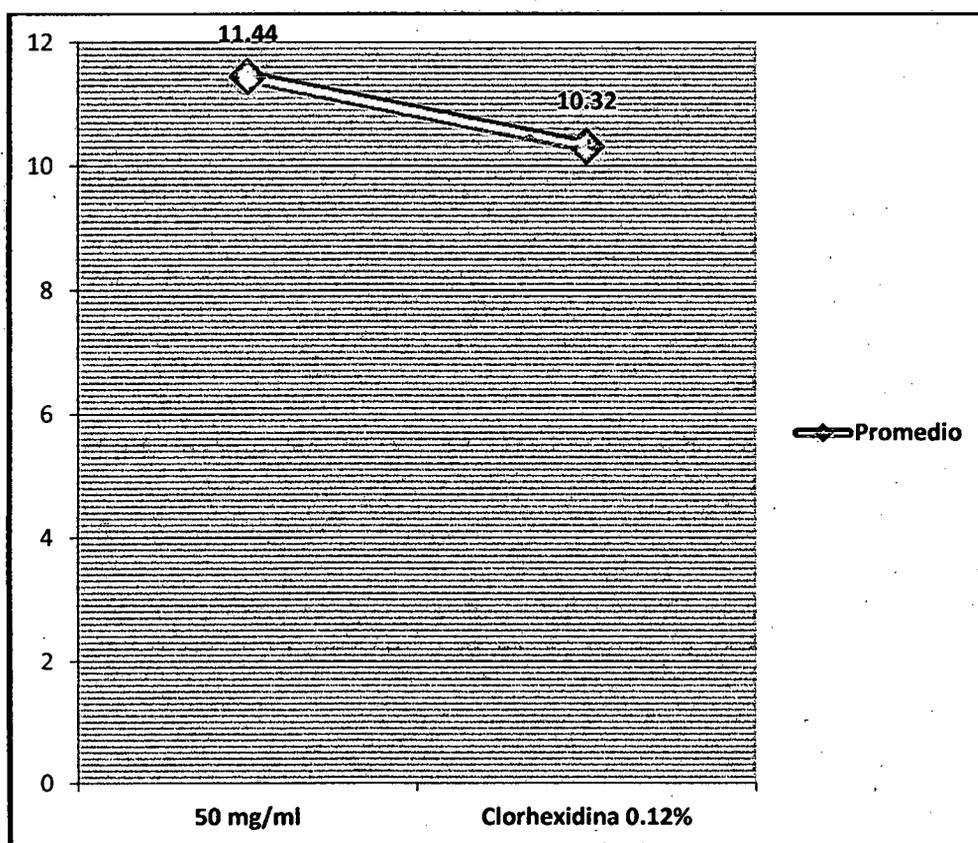
* t de Student, Fuente: Ficha

Comentario e interpretación

En la **tabla 6**, se quiere comparar la efectividad antibacteriana del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* a una concentración de 50 mg/ml y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% mediante los promedios del diámetro del halo de inhibición

que formaron las cepas de *Porphyromonas gingivalis* en ambos grupos. La prueba de t de Student se utiliza para contrastar la hipótesis nula de que el promedio del diámetro del halo de inhibición obtenido cuando se aplica el extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* a una concentración de 50 mg/ml es el mismo que cuando se aplica el Gluconato de Clorhexidina al 0,12%. El p -valor asociado al estadístico de contraste F es mayor que 0,05 (0,101) y a ese nivel de significación se acepta la hipótesis nula. Por consiguiente, el estadístico t adecuado para contrastar la hipótesis de igualdad de medias es en el que se han asumido varianzas iguales (Sig. bilateral=0,001), este valor es menor que 0,05, que al nivel de significación de 0,05 se rechaza la hipótesis nula planteada por la prueba t . Es decir, no se puede aceptar que el promedio del diámetro del halo de inhibición formado por las cepas de *Porphyromonas gingivalis* en el grupo al que se aplicó el extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* a una concentración de 50 mg/ml sea igual al grupo que se aplicó el Gluconato de Clorhexidina al 0,12 %, presentando el extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* a una concentración de 50 mg/ml mayor efectividad antibacteriana sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis* que la Clorhexidina al 0,12 % al formar un mayor diámetro del halo de inhibición (11,44 mm).

Gráfico 6. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* (geranio común) a la concentración de 50 mg/ml y el gluconato de Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.



FUENTE: Tabla 6

Tabla 7. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* (geranio común) en diferentes concentraciones y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.

	[mg/ml]	EFECTO ANTIBACTERIANO (Diámetro del halo de inhibición en mm)						*p- valor
		n	\bar{x}	DS	Mín.	Máx.	Rango	
		Extracto etanólico de <i>Pelargonium x hortorum</i>						
	6,25	25	3,68	0,43	3,0	4,0	1,0	0,000
	12,5	25	5,50	0,45	5,0	6,0	1,0	
	25	25	7,18	0,47	6,0	8,0	2,0	
	50	25	11,44	0,82	9,0	13,0	4,0	
Sustancias control								
	Clorhexidina 0,12%	25	10,32	1,25	7,0	11,5	4,5	

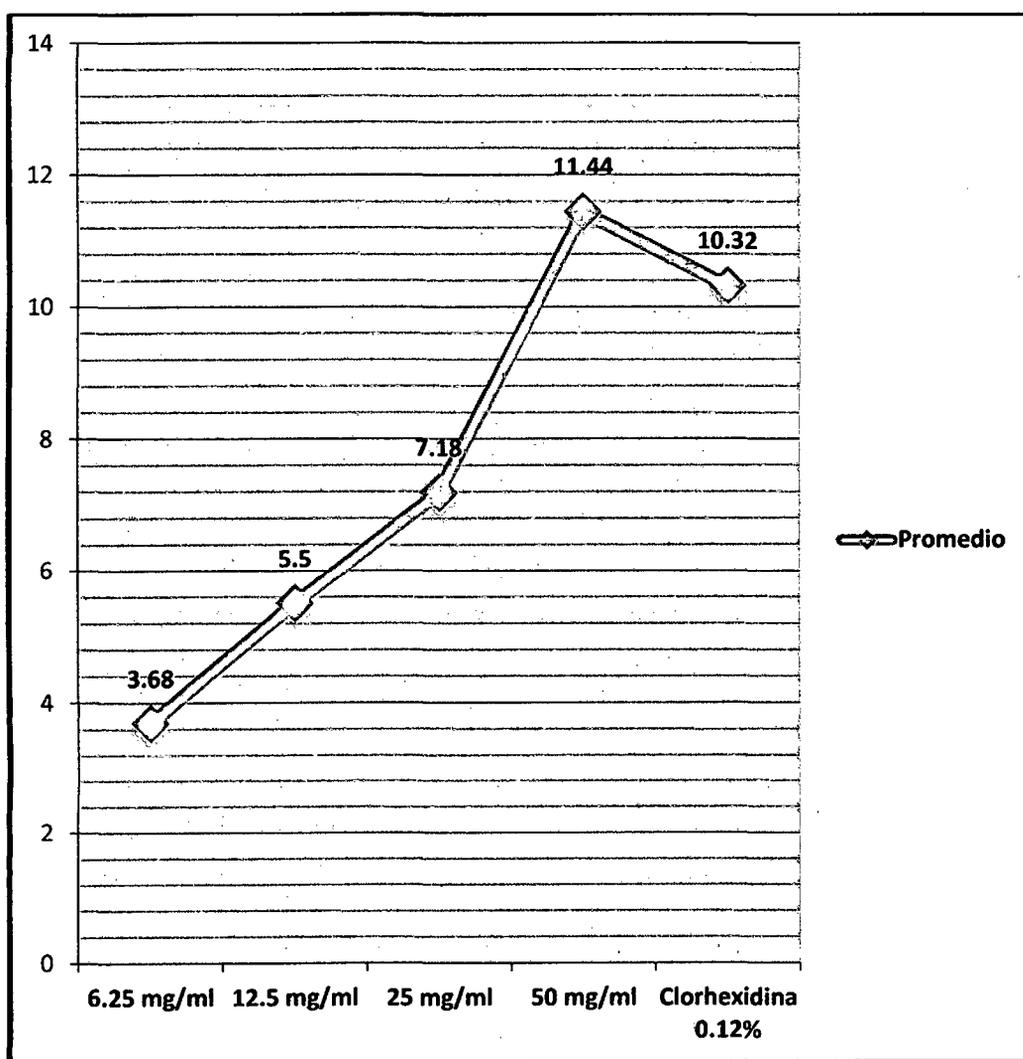
* ANOVA; Fuente: Ficha

Comentario e interpretación

En la **tabla 7**, se desea comprobar si la efectividad antibacteriana sobre las cepas de *Porphyromonas gingivalis* depende del tipo de solución que se aplique. La prueba del análisis de varianza (ANOVA) plantea la hipótesis nula de que el extracto

etanólico *Pelargonium x hortorum* a concentraciones de 6,25 mg/l, 12,5 mg/ml, 25 mg/ml, 50 mg/ml y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% poseen medias o promedios similares. El p-valor asociado al estadístico de contraste para los promedios de los diámetros de los halos de inhibición de las *Porphyromonas gingivalis* divididos en 5 grupos de acuerdo al tipo de solución que se aplicó es de 0,000, menor que 0,05 (a nivel de significancia 0,05), en consecuencia se rechaza la hipótesis nula. Es decir, existen diferencias estadísticas significativas en los promedios del diámetro del halo de inhibición de las cepas de *Porphyromonas gingivalis* de los cinco grupos a los que se aplicó los diferentes tipos de soluciones, presentando mayor diámetro del halo de inhibición (11,44 mm) el grupo de cepas de *Porphyromonas gingivalis* sobre las que se aplicó el extracto etanólico *Pelargonium x hortorum* a una concentración de 50mg/ml demostrando mayor efectividad antibacteriana que los otros grupos a los que se aplicaron las otras soluciones de menor concentración y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12%.

Gráfico 7. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* (geranio común) en diferentes concentraciones y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.



FUENTE: Tabla 7

CAPITULO V.

DISCUSIÓN

En el presente estudio se evaluó la efectividad antibacteriana del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey a las concentraciones de 50, 25, 12.5, y 6.25 mg/ml sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*, comparando cada una de estas concentraciones con el gluconato de Clorhexidina al 0.12%. Para la prueba antibacteriana se utilizó la técnica de difusión en pozos, mediante 25 cultivos de cepas de *Porphyromonas gingivalis* en placas de petri con agar Schaedler.

En cuanto a estudios del análisis fitoquímico de especies de *Pelargonium* existe concordancia en las investigaciones previas y trabajos realizados. Autores como **Guerrero C. et al.**¹³ menciona en su estudio la presencia de fitoconstituyentes como taninos, esteroides, antocianinas y saponinas en la especie de *Pelargonium peltatum* cuyos principios activos (de los tres primeros principalmente), son de gran importancia en la inhibición del crecimiento bacteriano; en un estudio similar **Baculima D. et al.**¹² menciona que los principales constituyentes del *Pelargonium zonale* son los compuestos fenólicos, taninos, flavonoides y terpenos llegando a la conclusión de que la acción antibacteriana está influenciada especialmente por los taninos; en nuestro estudio se reafirma dichos hallazgos, ya que en el análisis fitoquímico realizado al extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* se encontraron los mismos componentes (taninos, fenoles, flavonoides, triterpenoides), y estos serían quienes le confieren su acción antibacteriana.

Otras investigaciones de especies de *Pelargonium* con análisis fitoquímicos más exhaustivos como el estudio realizado por **Gâlea C. et al.**¹⁰ indica que de los 61 componentes encontrados, el Citronerol y Geraniol son los componentes de mayor importancia en el aceite esencial de *Pelargonium roseum*; del mismo modo **Kabera J. et al.**¹⁵ y **Bigos M. et al.**¹¹ encontraron en sus estudios que los componentes químicos de mayor importancia en especies de *Pelargonium graveolens* fueron Geraniol y Citronerol; Bigos menciona que la actividad antibacteriana es debido al alto contenido de estos compuestos alcohólicos. Cabe mencionar que según su origen biosintético el Citronerol y Geraniol son compuestos que pertenecen al grupo de los monoterpenos; en nuestro estudio uno de los compuestos de mayor abundancia fueron los triterpenoides, tanto los monoterpenos y triterpenos pertenecen a la familia de los terpenos,¹⁵⁸ por tanto se podría decir de manera especulativa que nuestro estudio coincide con los estudios mencionados, destacando que en nuestro estudio se realizó el extracto etanólico, mientras que los otros estudios se hicieron en aceites esenciales; sin embargo nuestros datos indican que cabe la posibilidad de la presencia de citronerol y geraniol en esta especie, aunque por el momento no se pueda afirmar claramente su presencia, para lo cual se sugieren estudios posteriores con el aceite esencial de *Pelargonium x hortorum* que confirmen lo mencionado. Nuestro estudio y los estudios anteriormente descritos no coinciden con la investigación realizada por **Andrade M. et al.**¹⁶ donde indica que el componente principal encontrado en el aceite esencial de *Pelargonium odoratissimum* es el metil eugenol; esta diferencia probablemente se deba a los diferentes períodos de cosecha,

el método de destilación y análisis empleado en las investigaciones. Puede ser también causada por otros factores, tales como el ciclo vegetativo de la planta y las condiciones climáticas.

En lo referente a investigaciones de extractos etanólicos y aceites esenciales de especies de *Pelargonium* cabe destacar que no existen estudios sobre cepas de *porphyromonas gingivalis*; podemos mencionar investigaciones contra bacterias que pertenecen al mismo grupo y con requerimientos similares; tal como el estudio realizado por **Gâlea C. et al.**¹⁰ donde investigó la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Pelargonium roseum* sobre un grupo de bacterias Gram negativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*) dentro de este grupo el *Escherichia coli* ATCC 25992 es un Bacilo Gram negativo anaerobio facultativo, donde Gâlea comprobó que el aceite esencial de *Pelargonium roseum* fue activo contra esta cepa formando halos de 10 a 15 mm; esto puso a prueba que el *Pelargonium roseum* es efectivo contra bacterias anaerobias. Otra investigación similar fue realizada por **Kabera J. et al.**¹⁵ donde pretendió demostrar el efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Pelargonium graveolens* sobre bacterias Gram positivas y bacterias Gram negativas como *Escherichia coli*, *Shigella* y *Salmonella typhi*, estas bacterias cuentan con características similares a la cepa bacteriana aplicada en nuestro estudio; particularmente en su estudio Kabera demostró que el aceite esencial de *Pelargonium graveolens* es activo contra estos tres microorganismos, mas no es activo sobre microorganismos Gram positivos como el estafilococos aureus; Este evento podría ser justificado científicamente debido a que

las bacterias Gram positivas están envueltas en su pared celular de peptidoglicano, mientras que las bacterias Gram negativas carecen de él, esto les confieren a las bacterias Gram positivas una resistencia lipolítica, bloqueando el paso del aceite esencial, mientras que las bacterias Gram negativas se han vuelto vulnerables por la ausencia del mismo.¹⁵⁹ Esto demuestra por qué el extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* fue efectivo sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*; por tanto se acredita nuevamente la efectividad antibacteriana de las especies de *Pelargonium* sobre bacilos anaerobias Gram negativos, sin dejar a lado la posibilidad de que el *Pelargonium x hortorum* sea efectivo contra bacterias Gram positivas, para ello se requieren nuevos estudios que lo confirmen.

En cuanto a resultados obtenidos sobre las distintas concentraciones de especies de *Pelargonium*, se menciona a Guerrero C. et al.¹³ donde comparó la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de *Pelargonium peltatum* en concentraciones de 400, 200, 100, 50, 25 y 12,5mg/ml con la clorhexidina al 1.2mg/ml sobre *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis* y *Streptococcus sanguis*. Guerrero observó que el diámetro promedio de la zona de inhibición es mayor a la concentración de 400 mg/mL y el diámetro promedio de la zona de inhibición es menor a la concentración de 25 mg/mL, este hecho da a conocer que a mayor concentración del extracto existe mayor zona de inhibición sobre las bacterias estudiadas, asemejando este hecho a nuestro estudio, donde se indica que a la concentración de 50mg/ml se formaron halos de inhibición de 9 a 13 mm y a la concentración de 6.25mg/ml se formaron halos de 3 a 4 mm. Entonces se podría

decir que a mayor concentración del extracto existe una mayor acumulación del principio activo, ya sea de flavonoides, taninos o esteroides, aunque esto se podría confirmar con un estudio profundo de los fitoconstituyentes, enfrentándolos particularmente a los microorganismos. Guerrero también menciona que el extracto acuoso a la concentración de 400 mg/mL tiene un efecto mayor inhibitorio que la clorhexidina, a la concentración de 200 mg/mL tiene igual efecto inhibitorio, esto difiere de nuestro estudio donde se observó que el extracto etanólico a la concentración de 50mg/ml presentó mayor efecto inhibitorio que el Gluconato de clorhexidina; esta discrepancia puede deberse al tipo de extracto utilizado, al tipo de bacteria puesta a prueba y a la diferente concentración de Clorhexidina empleada en cada estudio. De igual manera el estudio realizado por **Andrade M. et al.**¹⁶ en sus antecedentes apoyan la observación de mayor concentración del extracto mayor efecto; el crecimiento de *E. coli* fue inhibida por el aceite esencial de *P. odoratissimum* a una concentración de 100 ul/ml y el mayor grado de inhibición se produjo a la concentración de 300ul/ml; pero se corre el riesgo de que a mayor concentración del extracto exista un mayor riesgo de toxicidad.

Es importante señalar que este estudio es un aporte más a la serie de investigaciones nacionales que se vienen realizando con la finalidad de demostrar la actividad antibacteriana de nuestras plantas medicinales. El presente estudio corrobora el gran potencial existente en nuestra medicina tradicional, como fuente de nuevos medicamentos para la prevención y tratamiento de pacientes con enfermedad periodontal.

CONCLUSIONES

1. El extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey en diferentes concentraciones si presentó efectividad antibacteriana sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.
2. Existieron diferencias significativas de efectividad antibacteriana entre las concentraciones utilizadas del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey.
3. A mayor concentración del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey se evidenció mayor efectividad antibacteriana sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.
4. La concentración de 50 mg/ml del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey presentó mayor efectividad antibacteriana que las concentraciones de 6,25 mg/ml, 12,5 mg/ml y 25 mg/ml.
5. La efectividad antibacteriana fue mayor, con diferencias significativas, cuando se utilizó la Clorhexidina al 0,12% que cuando se utilizó el extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey a concentraciones de 6,25 mg/ml, 12,5 mg/ml y 25 mg/ml.
6. El extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey a una concentración de 50 mg/ml presentó mayor efectividad antibacteriana, con diferencias significativas, que la Clorhexidina al 0,12%.

RECOMENDACIONES

1. Se sugiere determinar en posteriores estudios con otras metodologías, la presencia de que fitoconstituyentes le estarían brindando específicamente la efectividad antibacteriana al extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum*.
2. Este estudio es un primer paso que indica que el *Pelargonium x hortorum* tiene efecto antibacteriano sobre *Porphyromonas Gingivalis*; el cual podría ser aplicado en un futuro como medicamento natural en odontología; para ello se recomienda primero estudios más profundos sobre su toxicidad.
3. Determinar el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey frente a otros microorganismos patógenos de la cavidad oral, como streptococos y candida.
4. Implementar laboratorios y reforzar investigaciones de este tipo en la EAP de Odontología de la Universidad Nacional Hermilio Valdizan, ya que existe un gran potencial en nuestra medicina tradicional.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MINISTERIO DE SALUD; I Foro Investigación y biocomercio en plantas medicinales y alimenticias de uso tradicional en el Perú; Lima-Perú, 2008, pp. 44.
2. LOCK O. Investigación Fitoquímica. 2ª ed. Lima: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú; 2004. pp. 2, 3,7.
3. CALIXTO COTOS, María; Plantas Medicinales Utilizadas En Odontología (Parte I); Lima, Kiru 3(2), 2006, pp. 6.
4. BACULIMA PEÑA et al.; Determinacion in vitro del efecto antibacteriano y antimicótico de pelargonium zonale en patologia bucofaríngea; Ecuador, Tesis para el título de químico farmacéutico, 2010, pp. 127.
5. Zimmerman C (1998a). Geraniaceae. Geranium. *Disponible:* <http://biologogy.nwc.whecn.edu/biology/bot2100/>.
6. BIGOS, Monika et al.; Antimicrobial Activity of Geranium Oil against Clinical Strains of Staphylococcus aureus; Poland, Molecules, 2012, pp. 17.
7. GÁLEA, Carmen; HANCU, Gabriel; Antimicrobial and Antifungal Activity of *Pelargonium roseum* Essential Oils; Romania, Adv pharm. Bull., 2014, pp. 4.
8. ALBANDAR JM. Periodontal diseases in North America. Periodontol 2000. 2002; (29) pp. 31-69.
9. MINISTERIO DE SALUD. Documento Técnico Plan Nacional de Salud Bucal "Sonríe Siempre Perú"; Lima-Perú, 2008, pp. 2-3
10. VAN HOUTE, J; Role of microorganism in caries etiology. J Dent Res 1994; pp. 73(3):672-82.
11. LOESCHE, WJ; The antimicrobial treatment of periodontal disease: chaging the treatment parading. Crit Rev Oral Biol Med 1999; pp. 10(3):245.
12. MOSS, ME. et al; Association of dental caries and blood lead levels. JAMA 1999; pp. 281(24):2294
13. SONNESEN, L.; Malocclusions traits and sytoms and signs of temporomandibular disorders in children. Eur J Orthod; 1998, pp. 20(5):543.

14. PETERSON A. et al.; Extaction of essential oil from the geranium (*Pelargonium graveolens*) with supercritical carbondioxide. J. Chem. Technol. Biotechnol; 2007, pp. 81: 167-172.
15. MEJÍA Kember; RENGIFO, Eisa; Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonía Peruana; Lima, Asociación gráfica educativa, 2000, pp. 1.
16. MORÓN RODRÍGUEZ, Francisco; recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud acerca del uso de los tratamientos tradicionales; Cuba, Revista cubana de plantas medicinales v.13 n.4, 2008, pp. 1.
17. UICN-OMS-WWF. 1993. Directrices sobre Conservación de plantas medicinales. Organización Mundial de la Salud (OMS). Unión internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) and Worldlife Fund (WWF), Gland. pp 55.
18. GUERRERO HURTADO, Juana et al; Actividad antibacteriana de *Pelargonium peltatum* (L.) L'Hér. Sobre *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* y *Streptococcus mitis* frente a Clorhexidina; Trujillo-Perú, Rev. Cubana De plantas medicinales 18(2), 2013, pp. 13.
19. LIEBANA UREÑA, Microbiología Oral 2.ª edición; Madrid, Editorial McGraw-HILL – Interameicana de España, S.A.U. 2002, pp. 375-376.
20. MINISTERIO DE SALUD. Salud Bucal. Disponible en: http://www.minsa.gob.pe/portada/est_san/saludbucal.htm. Artículo web. Consultada el 15 de octubre del 2014
21. ZADEH HH, NICHOLS FC, MIYASAKI KT; The role of the cell-mediated immune response to *Actinobacillus actinomycescomitans* and *Porphyromona gingivalis* in periodontitis. Periodontol 2000. 1999;20: pp. 239-288.
22. SOCRANSKY S, HAFFAJEE A; Dental biofilms: Difficult therapeutic targets. Periodontal 2000. 2002;28: pp. 12-55
23. KABERA, Justin et al. Chemical Composition and Antimicrobial Effect of the Essential Oil of *Pelargonium graveolens* Grown in Butare Towards Formulation of Plant based Antibiotics; Francia, Journal of Microbiology Research 2013, 3(2): 87-91.

24. ANDRADE, Milene; Antimicrobial activity and chemical composition of essential oil of *Pelargonium odoratissimum*; Brazil, *Revista Brasileira de Farmacognosia* 21(1): 47-52. 2011.
25. *Revista mundo vegetal*; Aceites Esencial de Geranio. Disponible en: <http://es.paperblog.com/aceites-esencial-de-geranio-639514/>
26. LAUGHNER LH ; History. *En: Geraniums IV. The grower's manual*. Ed. White J. Ball Publishing, Geneva. USA, 1993, pp.363-371.
27. HARNEY PM; The origin, cytogenetics and reproductive morphology of the zonal geranium: a review. *HortScience*; 1976, 11(3): 189-194.
28. HORN W; Interspecific crossability and inheritance in *Pelargonium*. *Plant Breeding*; 1994, pp. 113(1): 3-17.
29. Lis Balchin M; A chemotaxonomic study of the *Pelargonium* (Geraniaceae) species and their modern cultivars. *Journal of Horticultural Science*; 1997, 72(5): 791-795.
30. United States Department of Agriculture. Disponible en: <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=PEHO2>
31. ABO EL-Nil MM; *Geranium (Pelargonium)*, *Handbook of Plant Cell Culture Vol. 5. Ornamental species*. Ed. Philip V. Ammirato DAE, William R. Sharp, Yashpal P.S. Bajaj. McGrawHill, New York. USA; 1990, pp. 439-460.
32. VAN DER WALT JJA. *Pelargoniums of Southern Africa I*, Juta, Cape Town; 1977 pp. (Albers, 1988).
33. VAN DER WALT JJA, Vorster PJ; *Pelargoniums of Southern Africa II*, Juta, Cape Town; 1981 pp. (Albers, 1988).
34. YU S-N, HORN WAH; Additional chromosome numbers in *Pelargonium* (Geraniaceae); *Plant Syst Evolution*; 1998, pp.159: 165-171.
35. LIS BALCHIN M; A chemotaxonomic study of the *Pelargonium* (Geraniaceae) species and their modern cultivars. *Journal of Horticultural Science*; (1997). 72(5) pp. 791-795.

36. RENOÛ JP et al.; Evaluation of the genetic variability in the genus *Pelargonium* using RAPD markers. *Journal of Horticultural Science*, 1997, 72(2): 229-237.
37. STARMAN TW et al.; Evaluating genetic relationships of geranium using arbitrary signatures from amplification profiles. *HortScience*; 1997, 32(7): 1288-1291.
38. BAKKER FT et al; Mitochondrial and chloroplast DNA-based phylogeny of *Pelargonium* (Geraniaceae). *American Journal of Botany*; 2000, 87(5): 727-734.
39. KUHLMAN PL; 1998. Geraniaceae. Disponible en: <http://www.denison.edu/~kuhlman/WOL/geraniaceae.html>.
40. ÁLVAREZ MATÍN, Sara; Riego Deficitario en Distintas Etapas del Desarrollo de Plantas Ornamentales Cultivadas en Maceta; Cartagena, Investigaciones Científicas de la Universidad Politécnica de Cartagena, 2011, pp. 16.
41. MONSALVE, Christian; LEÓN, Blanca; Geraniaceae endémicas del Perú; Perú, *Rev. Per. Biol.* 13(2), 2006, pp. 1.
42. Geraniaceae is all around the world (1999). The geraniaceae family. Disponible: <http://www.users.bigpon.com/SCRIVENS/PAGE19.html>.
43. ALONSO GOMEZ, M^a de las Mercedes; Biotecnología Aplicada A Mejora De *Pelargonium*; Madrid, Memoria presentada para optar al grado de Doctor, 2002, pp. 8.
44. NESSMANN P; *Los geranios. Jardinería práctica*. Susaeta ediciones S.A., Madrid; 1998, pp. 69.
45. ANÓNIMO ;The perlargonium page; 2001. Disponible: www2.arnesse/~mstrli/pp1.html.
46. DALE T, ROGERS OM; Male sterility in *Pelargonium x hortorum* Bailey. *HortScience*; 1971, pp 6(2): 17-18.

47. BENTVELSEN GCM et al.; Interspecific crosses in *Pelargonium* and the application of embryo rescue methods. *Integration of in vitro techniques in ornamental plant breeding*; 1990, pp. 104-109.
48. DENIS PEIXOTO L et al.; Interspecific crosses between *Pelargonium X hortorum* and *P. quinquelobatum* using embryo rescue and molecular characterization of hybrids by an endogenous chs probe. *Plant Breeding*; 1997, pp. 116(2): 177-180.
49. MITCHELL KA, MARKHAM KR, BOASE MR Pigment chemistry and colour of *Pelargonium* flowers. *Phytochemistry*; 1998, pp. 47(3): 355-361.
50. ZIMMERMAN C; *Pelargonium-Geranium*; 1998b Disponible en: <http://www.msue.msu.edu/msue/imp/mod03/>.
51. STACIOKAS L; Geraniums not just for elitist anymore; 2000. Disponible: <http://www.newsminer.com/heartland/hland53198/garden.html>.
52. FONTENO WC; Geraniums. *En: Floriculture*. Ed. Larson RL. Academic Press, Inc., San Diego; 1992, pp.451-475.
53. MACBRIDE, J Francis; Flora of Peru; Chicago, Field museum of natural history, 1949, pp. 290.
54. AYO RG; Phytochemical constituents and bioactivities of the extracts of *Cassia nigricans Vahl*. *J. Med. Plant Res.*; 2010, pp. 14: 1339-1348.
55. LIS BM ; A Chemotaxonomic reappraisal of the Section *Ciconium Pelargonium (Geraniaceae)*. *S. Afr. J. Bot.*; 1996, pp. 62: 277-279.
56. BAKKER FT. et al.; Phylogeny of *Pelargonium (Geraniaceae)* based on DNA sequences from three genomes. *Taxon*; 2004, pp. 53: 17-28.
57. WILLIAMS CA, et al.; The application of leaf phenolic evidence for systematic studies within the genus *Pelargonium (Geraniaceae)*. *Biochem. Syst. Ecol.*; 2000, pp. 28: 119-132.
58. WILLIAMS CA. et al.; Phytochemistry of the genus *Pelargonium*. In: Lis-Balchin, M. (Ed.), *Geranium and Pelargonium*. Taylor and Francis, London, 2002.

59. VERNIN G. et al.; Etude des huiles essentielles par GC-SM-banque specma: essences de geranium. Parf. Cosm. Aromather; 1983, pp. 52: 51–61.
60. VERMA RS. Et al.; Change in the essential oil composition of the *Rose-scented geranium* (*p.graveolens* L heri.exAi.) due to date of transplanting under hill conditions of utterakhand. Indian, 2010, pp.1: 367 370.
61. KIRAN Gdb; KAUL Vk; Variation in essential oil composition of *Rose-scented geranium* (*Pelargonium* sp.) distilled by different distillation techniques. Flavour Fragr. J.; 2005, pp. 20: 222-231.
62. ROBERT AS; PHILIP JM; Comprehensive two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry analysis of *Pelargonium graveolens* essential oil using rapid scanning quadrupole mass spectrometry. J. Analyst; 2003, pp. 128: 879-883.
63. WAGNER H. et al.; Lotter H Neue Cumarine aus *Pelargonium reniforme* Curt.-Wurzel. Tetrahedron Lett; 1974, pp. 43: 3807- 3808.
64. BLADT S; WAGNER H; From the Zulu medicine to the European phytomedicine-Umckaloabo. Phytomedicine; 2007, pp. 14: 2-4.
65. KOLODZIEJ H.; Traditionally used *Pelargonium* species: Chemistry and biological activity of umckaloabo extracts and their constituents. Phytother; pp. 3: 77 -93.
66. HERBERT K; Fascinating metabolic pools of *Pelargonium sidoides* and *Pelargonium reniforme*, traditional and phytomedicinal sources of the herbal medicine Umckaloabos. Pytomed; 2007, pp. 14: 9-17.
67. MATTHYS H, Kamin et al.; *Pelargonium sidoides* preparation (EPs 7630) in the treatment of acute bronchitis in adults and children. Phytomedicine; 2007, 14: 69-73.
68. SCHOLZ E; Pflanzliche Gerbstoffe-Pharmakologie und Toxikologie. Dtsch. Apoth. Ztg; 1994, 34: pp. 3167-3179.
69. ROSAS A.; Determinación de la actividad Antimicrobiana de los extractos de *Pelargonium hortorum* (geranio). En: *Primer Congreso Internacional FITO 2000 y Primer Congreso Peruano de Plantas*; Lima 2000 Set 20-30. ICA:

- Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2000. p. 41 4.
70. PRIETO Y. Determinación de los fitoconstituyentes, toxicidad aguda y actividad antiinflamatoria de hojas de *Pelargonium roseum*; Trujillo- Perú; 1995. pp. 45-7.
 71. KOLODZIEJ H, Kayser; Pharmacological profile of extracts of *Pelargonium sidoides* and their constituents. *Phytomedicine*; 2003, pp. 10: 18-24.
 72. LIS BM et al.; Antimicrobial activity of novel *Pelargonium* essential oils added to a quiche filling as a model food system. *Lett. Microbiol*; 1998, pp. 27: 207-210.
 73. KAYSER O; KOLODZIEJ H; Antibacterial activity of extracts and constituents of *Pelargonium sidoides* and *Pelargonium reniforme*. *Plant Med.*; 1997, pp. 63: 508-510.
 74. SEIDEL V; TAYLOR Pw; *In vitro* activity of extracts and constituents of *Pelargonium* against rapidly growing mycobacteria. *Int. J. Antimicrob. Agents*; 2004, pp. 23: 613-619.
 75. MATIVANDLELA, Spn.; Antibacterial anti-fungal and antitubercular activity of *Pelargonium reniforme* and *Pelargonium sidoides*(DC) (Geraniaceae) root extracts . *South Afr. J. Bot.*; 2006, pp. 72: 232- 237.
 76. KAYSER O, KOLODZIEJ H, KIDERLEN AF; Immunomodulatory principles of *Pelargonium sidoides* . *Phytother. Res.*; 2001, pp. 15: 122-126.
 77. KOCH E, LANZENDORFER G, WOHN; Stimulation of interferon (IFN)- β -synthesis and natural killer (NK) cell activity by an aqueousethanolic extract from roots of *Pelargonium sidoides* (Umckaloabo). *Naunyn-Schmiederberg's Arch. Pharmacol*; 2002, pp. 365: 75.
 78. KOLODZIEJ H, Kiderlen AF; *In vitro* evaluation of antibacterial and immuno modulatory activities of *Pelargonium reniforme*, *Pelargonium sidoides* and the related herbal drug preparation. *Phytomedicine*, 2007, pp. 14: 18-26.

79. ADEWUSI EA, AFOLAYAN AJ; Antibacterial, antifungal and antioxidant activity of the roots and leaves of *Pelargonium reniforme* Curtis (Geraniaceae). Afr. J. Biotech.; 2009, pp. 8: 6425-6433.
80. HAKAN U et al.; Antibacterial Spectrum of Umckaloabo (*Pelargonium Sidoides*) On Upper Airway Infection Agents. Eur. J. Gen. Med.; 2009. 6: 245-248.
81. STJEPAN P, ZDENKA K, MARIJANA Z; Antimicrobial activity of flavonoids from *Pelargonium radula* (Cav.) L'Hérit Acta Pharm.; 2005, pp. 55: 409-415.
82. COSENTINO CI. et al.; *In vitro* antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. Lett. Appl. Microbiol.; 1999, pp. 29: 130-135
83. KARAMAN I. et al.; Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. J. Ethnopharmacol; 2003, pp. 85: 231-235.
84. LALLI JYY. Et al.; *In vitro* biological activities of *South Africa pelargonium* (Geraniaceae) species. South Afr. J. Bot.; 2008, pp. 74: 153-157.
85. WATT Jm, BREYER Bmg; The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa, 2nd ed. Livingstone, London, 1962.
86. HUTCHINGS A, SCOTT Ah, LEWIS G; Cunningham A Zulu Medicinal Plants: An Inventory. University of Natal Press, Pietermaritzburg; 1996.
87. LIS BM, Dean; Antimicrobial effects of hydrophilic extracts of *Pelargonium* species (Geraniaceae) .Lett. Appl. Microbiol., 1996, pp. 23: 205- 207.
88. HELMSTADTER A (1996). Unckaloabo – Late vindication of a secret remedy. Pharm. Hist., 26: 2-4.
89. BRENDLER T, VAN WBE; A historical, scientific and comercial perspective on the medicinal use of *Pelargonium sidoides* (Geraniaceae). J. Ethnopharmacol; 2008, pp 119: 420-433.
90. MILLER Dm; The taxonomy of *Pelargonium* species and cultivar, their origin and growth in the wild. *geranium* and *Pelargonium*. The genera *geranium* and *pelargonium* In maria Lis Balchin (ed). medicinal and aromatic

- plants-industrial profile .published by taylor and francis, London; 2002, pp. 49-79
91. WEISS EA Essential oil crops. Centre for Agriculture and Biosciences CAB International, New York and UK; 2007.
 92. SMITH A; A Contribution to the South African Materia Medica, third ed. Lovedale, South Africa; 1895.
 93. BATTEN A; BOKELMAN H; Wild Flowers of the Eastern Cape Province. Books of Africa, Cape Town. 1966.
 94. HERBERT k; OLIVER, K; Pharmacological profile of extracts of *Pelargonium sidoides*. Phytomedicine; 2003, pp.10: 18-24
 95. STANDEN DMD; CONNELLAN PA, LEACH DN; Natural killer cell activity and Lymphocyte activation investigating the effects of a selection of essential oils and components in vitro. Int. J. Aromather; 2006, pp. 16: 133-139.
 96. IVETTE LALLI, Jackeline; *In Vitro* Pharmacological Properties And Composition Of Leaf Essential Oils And Extracts Of Selected Indigenous *Pelargonium* (Geraniaceae) Species; Johannesburg, thesis for a master's degree in pharmacy, 2005, pp. 382.
 97. NAKAYAMA, H.; Fragrance Hypersensitivity and its control. In: Frosch, P.J., Johansen, J.D. and White, I.R. (Eds). Fragrances: Beneficial and Adverse Affects. Springer-Verlag, Berlin; 1998, pp. 83-91.
 98. MOHAMMAD SABZGHABAEI, Ali et al; Clinical evaluation of the essential oil of *Pelargonium graveolens* for the treatment of denture stomatitis; Iran, Dental Research Journal vol 8, 2011, pp. 4.
 99. FLEMMING T; Periodontitis Ann Periodontol. 1999;4(1): pp. 32-37.
 100. LOE H, THEILADE E, JENSEN SB; Experimental gingivitis in man. J Periodontol 1965;35: pp. 177-187
 101. SLOTS J, BRAGD L, WIKSTRÖM M, DAHLÉN G.; The occurrence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* and

- Bacteroides intermedius* in destructive periodontal disease in adults. *J Clin Periodontol.* 1986;13: pp. 570-577.
102. SOCRANSKY S, HAFFAJEE A; Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. *Periodontol 2000.* 1994;5:7-25.
 103. GOODSON JM; Acute exacerbation in chronic periodontal disease. *J Can Dent Assoc.* 1984;50(5): pp. 380-387.
 104. PAGE RC, SCHROEDER HE; Current status of the host response in chronic marginal periodontitis. *J Periodontol.* 1981;52: pp. 477-491
 105. ELLISON SA; Oral bacteria and periodontal disease. *J Dent Res.* 1970; 49(2): pp. 198-202
 106. SOCRANSKY SS, MANGANIELLO AD, PROPAS D, ORAM V, VAN HOUTE J; Bacteriological studies of developing supragingival dental plaque. *J Periodontal Res.* 1977;12(2): pp. 90-106.
 107. Consensus report; Periodontal diseases: pathogenesis and microbial factors. *Ann Periodontol.* 1996;1(1): pp. 926-32.
 108. PAGE RC, KORNMAN KS; The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol 2000.* 1997;4: pp. 9-11
 109. HAFFAJEE AD, SOCRANSKY SS; Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 1994;5: pp. 78-111
 110. FIVES-TAYLOR PM, MEYER DH, MINTZ KP, BRISSETTE C; Virulence factors of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Periodontol 2000.* 1999;20: pp. 136-67
 111. MAKELA M, SALO T, UITTO VJ, LARJAVA H; Matrix Metalloproteinases (MMP- 2 and MMP-9) of the Oral Cavity: Cellular Origin and Relationship to Periodontal Status). *J Dent Res.* 1994;73(8): pp. 1397-1406
 112. PRESHAW PM, HEFTI AF, JEPSEN S, ETIENNE D, WALKER C, BRADSHAW MH; Subantimicrobial dose doxycycline as adjunctive treatment for periodontitis. A review. *J Clin Periodontol.* 2004;31(9): pp. 697-707

113. LAMONT R, & JENKINSON H; Life below the gum line: Pathogenic Mechanism of *Porphyromona gingivalis*. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1999;62(4): pp. 1244-1263.
114. WILDERER, PA; CHARAKLIS, WG; Structure and function of biofilms; New York, In W. G. Charaklis and P. A. Wilderer (ed.), John Wiley and Sons, 1989, pp. 5- 17.
115. LANG NP, MOMBELLI A, Y ATTSTROM M; Dental plaque and calculus. *Textbook of Clinical Periodontology and Implant Dentistry*, In: Lindhe J., Karring, 1997, pp. 189–222.
116. SOCRANSKY S, HAFFAJEE A; Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol.* 1998;25: pp. 134-144
117. JORGENSEN M, AALAM A, SLOTS J; Periodontal antimicrobials-finding the right solutions. *International Dental Journal.* 2005;55: pp. 3-12
118. ISHIKAWA I, BAHENI P; Nonsurgical periodontal therapy - where do we stand now? *Periodontol 2000.* 2004;36: pp. 9-13
119. WALKER CB; The acquisition of antibiotic resistance in the periodontal flora. *Periodontol 2000.* 1996;10: pp. 78-88
120. HOLT S, KESAVALU L, WALKER S. & GENCO C; Virulence factors of *Porphyromona gingivalis*. *Periodontol 2000.* 1999;20: pp. 168-238
121. LAINE ML, APPELMELK BJ, VAN WINKELHOFF AJ; Prevalence and distribution of capsular serotypes of *Porphyromonas gingivalis* in periodontitispatients. *J. Dents Res.* 1997;76(12): pp. 1840-1844.
122. TOKUDA M, DUNCAN M, CHO MI, KURAMITSU HK; Role of *Porphyromona gingivalis* protease activity in colonization of oral surface. *Infect.Immun.* 1996;64(10): pp. 4067-4073
123. DUNCAN MJ, NAKAO S, SKOBE Z,XIE H; Interactions of *Porphyromona gingivalis* with epithelial cells. *Infect. Immun.* 1993;61(5): pp. 2260- 2265.
124. JOTWANI R, CUTLER CW; Adult periodontitis – specific bacterial infection or chronic inflammation? *J. Med. Microbiol.* 1998;47: pp. 187-188.

125. GENCO RJ, ZAMBON JJ, CHRISTERSSON LA; The origin of periodontal infection. *Adv Dent Res.* 1998;2(2): pp. 245-259
126. BECK J, OFFENBACHER S; Periodontitis: A risk factor coronary heart disease?. *Ann of Periodontol.* 1998;3: pp.127-141
127. DASANAYAKE A; Poor periodontal health of the pregnant woman as a risk factor for low birth weight. *Ann of Periodontol.* 1998;3: pp. 51-61
128. SHAH HN, COLLINS MD; Proposal to restrict the genus *bacteroides* (castellani and chalmers) to *bacteroides fragilis* and closely related species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1989;39(1): pp. 85-87.
129. SHAH HN, COLLINS MD; Proposal for reclassification of *Bacteroides assaccharolyticus*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides endodontalis* in a new genus, *Porphyromona*. *Int J Syst Bacteriol.* 1988;38(1): pp. 128-131.
130. MAGEE JT, HINDMARCH JM, DUERDEN BI, GOODWIN L; Classification of oral pigmented anaerobic bacilli by pyrolysis mass spectrometry and biochemical test. *J. Med. Microbiol.* 1992;37: pp. 56-61.
131. OLSEN I, SHHAH HN & GHARBIA SE; Taxonomy and biochemical characteristics of *Actinobacillus actinomycescomitans* and *Porphyromona gingivalis*. *Periodontol 2000.* 1999;20: pp. 14-52
132. PATHIRANA RD, O'BRIEN-SIMPSON NM, REYNOLDS EC; Host immune responses to *Porphyromonas gingivalis* antigens. *Periodontol 2000.* 2010;52: pp. 218-237.
133. POLTORAK A, HE X, SMIRNOVA I et al; Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: Mutations in TLR4 gene. *Science.* 1998;282: pp. 2085-2088.
134. D'EMPAIRE G, BAER MT, GIBSON FC; K1 serotype capsular polysaccharide of *Porphyromonas gingivalis* elicits chemokine production from murine macrophages that facilitates cell migration. *Infect Immun.* 2006;74(11): pp. 6236-6243.
135. HOLT SC, EBERSOLE JL; *Porphyromona gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia* : the "Red Complex", a prototype polybacterial

- pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontol 2000*. 2005;38: pp. 72-122.
136. YILMAZ O; The chronicles of *Porphyromona gingivalis*: the microbium, the human oral epithelium and their interplay. *NIH Microbiology*. 2008;154(10): pp. 2897-2903
137. BRUNNER J, SCHERES N, EL IDRISSEI NB, DENG DM, LAINE ML, VAN WINKELHOFF AJ; The capsule of *Porphyromona gingivalis* reduces the immune response of human gingival fibroblasts. *BMC Microbiology*. 2010;10(5): pp. 1-11.
138. DIXON DR, DARVEAU RP; Lipopolysaccharide heterogeneity: Innate host responses to bacterial modification of lipid a structure. *J Dent Res*. 2005;84: pp. 584-595.
139. KOCGOZLU L, ELKAIM R, TENENBAUM H, WERNER S; Variable cell responses to *P. gingivalis* lipopolysaccharide. *J Dent Res*. 2009;88(8): pp. 741-745.
140. JAIN S, DARVEAU RP; Contribution of *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide to periodontitis. *Periodontol 2000*. 2010;54: pp. 53-70.
141. OGAWA T; Immunobiological properties of chemically defined lipid A from lipopolysaccharide of *Porphyromona(bacteroides) gingivalis*. *Eur. J. Biochem*. 1994;219: pp. 734-742.
142. FURUTA N, TAKEUCHI H, AMANO A; Entry of *Porphyromona gingivalis* outer membrane vesicles into epithelial cells causes cellular functional impairment. *Infect. Immun*. 2009;77(11): pp. 4761-4770.
143. GRENIER D, BERTRAND J, MAYRAND D; *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles promote bacterial resistance to chlorhexidine. *Oral Microbiol Immunol*. 1995;10: pp. 319-320.
144. HIRAMINE H, WATANABE K, HAMADA N, UMEMOTO T; *Porphyromonas gingivalis* 67-kDa fimbriae induced cytokine production and osteoclast differentiation utilizing TLR2. *FEMS Microbiology Letters*. 2003;229: pp. 49- 55.

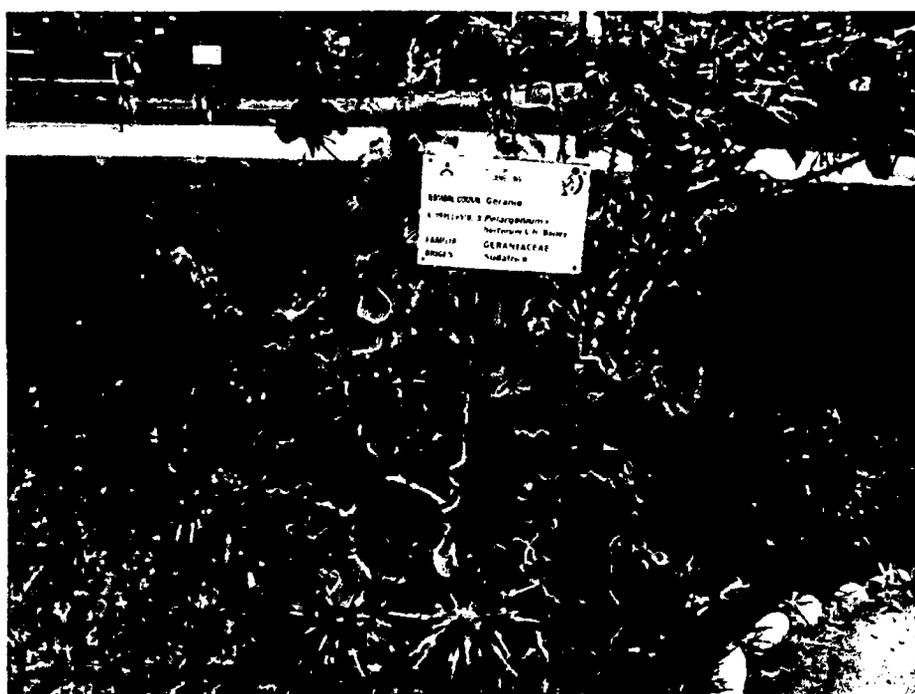
145. ENERSEN M, OLSEN I, KVALHEIM O, CAUGANT DA; Fim A genotypes and multilocus sequence types of *Porphyromonas gingivalis* from patients with periodontitis. *J Clin Microbiol.* 2008;46: pp. 31-42.
146. AMANO A, KUBONIWA M, NAKAGAWA I, AKIYAMA S, MORISAKI I, HAMADA S; Prevalence of specific genotypes of *Porphyromonas gingivalis* fimA and periodontal health status. *J Dent Res.* 2000;79: pp. 1664-1668.
147. OSBOURNE DO, ARUNI W, ROY F, PERRY C, SANDBERG L, MUTHIAH A, FLETCHER H; Role of vimA cell surface biogenesis in *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiology.* 2010;156: pp. 2180-2193.
148. TRAVIS J, PIKE R, IMAMURA T, POTEPA J; *Porphyromonas gingivalis* proteinases as virulence factors in the development of periodontitis. *J Periodontol Res.* 1997;32(1): pp. 120-125.
149. IMAMURA T; The role of gingipains in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol.* 2003;71(1): pp. 111-118.
150. STATHOPOULOU PG, GALICIA JC, BENAKANAKERE MR, GARCÍA CA, POTEPA J, KINANE DF; *Porphyromonas gingivalis* induce apoptosis in human gingival epithelial cells through a gingipain-dependent mechanism. *BMC Microbiol.* 2009;9: pp. 107
151. KURAMITSU HK, YONEDA M, MADDEN T; Proteases and collagenases of *Porphyromona gingivalis*. *Adv. Dent. Res.* 1995;9(1): pp. 37-40.
152. KUMAGAI Y, KONISHI K, GOMI T, YAGISHITA H, YAJIMA A, YOSHIKAWA M; Enzymatic properties of dipeptidyl aminopeptidase IV produced by the periodontal pathogen *Porphyromona gingivalis* and its participation in virulence. *Infect. Immun.* 2000;68(2): pp. 716-724.
153. WATSON MR, BRETZ WA, LOESCHE WJ; Presence of *Treponema denticola* and *Porphyromona gingivalis* in children correlated with periodontal disease of their parents. *J. Dent. Res.* 1994;73(10): pp. 1636-1640.

154. FENG Z, WEINBERG A; Role of bacteria in health and disease of periodontal tissues. *Periodontol* 2000. 2006;40(1): pp. 50-76.
155. MORANTE S; Valoración cruzada y a doble ciego, Mediante el modelo de gingivitis Experimental, de la eficacia de tres Colutorios de clorhexidina sin alcohol Frente a la prevención de gingivitis y a la Neoformación de placa supragingival. Memoria presentada para optar al grado de doctor, Universidad Complutense de Madrid, 2003.
156. PURCA T. Efectividad antibacteriana "in vitro" del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre flora salival. Tesis para obtener el título de cirujano dentista. UNMSM. 2013.
157. HERNÁNDEZ SAMPIERI, Roberto et al.; Metodología de la Investigación, 5ta Edición, México, Editorial McGraw-Hill, 2010, pp 121.
158. LOCK, O; Métodos de estudios de plantas naturales, Perú, fondo editoria de la Pontificia Universidad Católica del Perú, 1994, pp. 45-50.
159. J. LIN, Y. ZONG, G. QIN, B. LI AND S. TIAN , "Plasma membrane damage contributes to antifungal activity of silicon against *Penicillium digitatum*", *Curr. Microbiol*, 2010, vol. 61, no. 4, pp. 274.

ANEXOS

ANEXO N°1
RECOLECCIÓN DE LA PLANTA DEL
JARDÍN BOTÁNICO DEL INS

OBTENCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL



OBTENCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

Constancia de Recolección de muestra del Jardín Botánico del INS



CONSTANCIA DE RECOLECCIÓN

Por la presente, el que suscribe, da constancia de la recolección de muestras botánicas de la especie *Pelargonium × hortorum* L.H. Bailey "geranio común" del jardín botánico de plantas medicinales del Instituto Nacional de Salud, por los alumnos: Carlos Diego Belsuzarri Victorio y David Waldo Valderrama Castillo de la Facultad de Medicina, E.A.P. de Odontología de la Universidad Nacional Hermilio Valdizan de Huánuco, para desarrollar el proyecto de tesis titulado "Efectividad antibacteriana del extracto etanólico de *Pelargonium × hortorum* L.H. Bailey sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*".

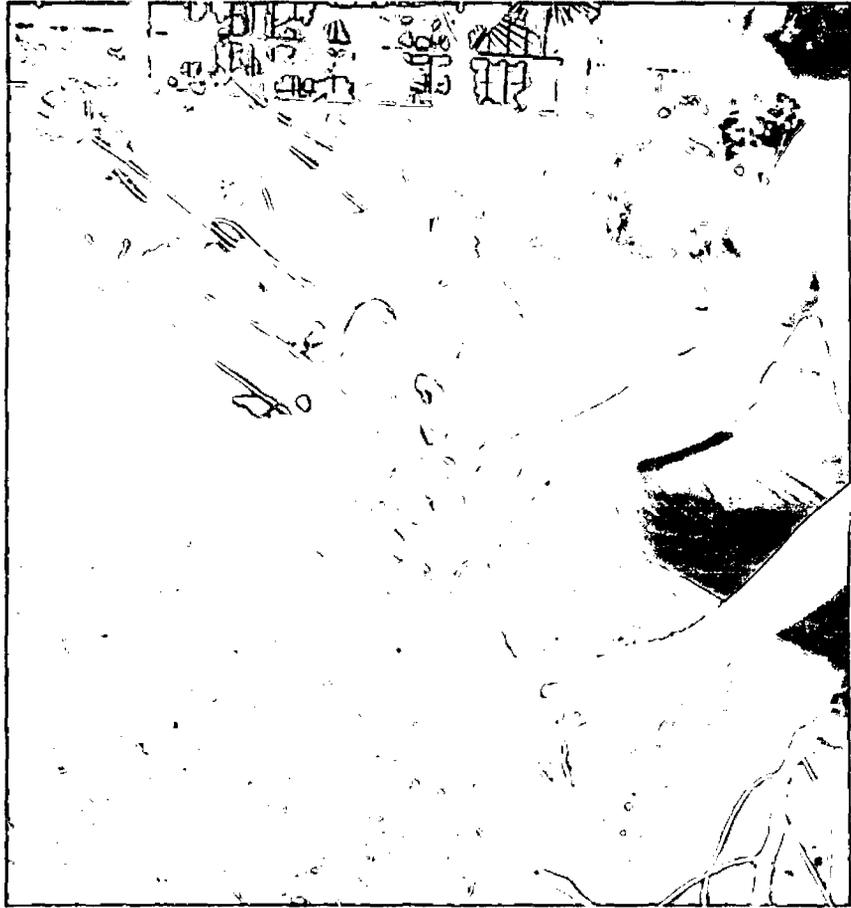
Lima, 3 de diciembre de 2014

(e) Jardín Botánico INS
Ing. Jesús Silva Alarcón
C.I.P. 26974

ANEXO N°2

**IDENTIFICACIÓN DE LA PLANTA EN
EL MUSEO DE HISTORIA NATURAL**

IDENTIFICACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL



Constancia de muestra vegetal del Museo de Historia Natural



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



"Año de la Promoción de la Industria Responsable y del Compromiso Climático"

CONSTANCIA N° 375-USM-2014

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

La muestra vegetal (planta completa) recibida de **David Waldo VALDERRAMA CASTILLO** y **Carlos Diego BELSUZARRI VICTORIO** estudiantes de la facultad de Medicina E.A.P. de Odontología de la Universidad Nacional Hermilio Valdizan Medrano, ha sido estudiada y clasificada como: ***Pelargonium x hortorum* L.H. Bayley** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ROSIDAE

ORDEN: GERANIALES

FAMILIA: GERANIACEAE

GENERO: *Pelargonium*

ESPECIE: *Pelargonium x hortorum* L.H. Bayley

Nombre vulgar: "geranio"
Determinado por Bigo. Mario Benavente Palacios.

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

Fecha, 10 de diciembre de 2014



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

ANEXO N°3

**OBTENCIÓN DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE *PERLARGONIUM X
HORTORUM*, PRUEBA DE
SOLUBILIDAD Y ANÁLISIS
FITOQUÍMICO**

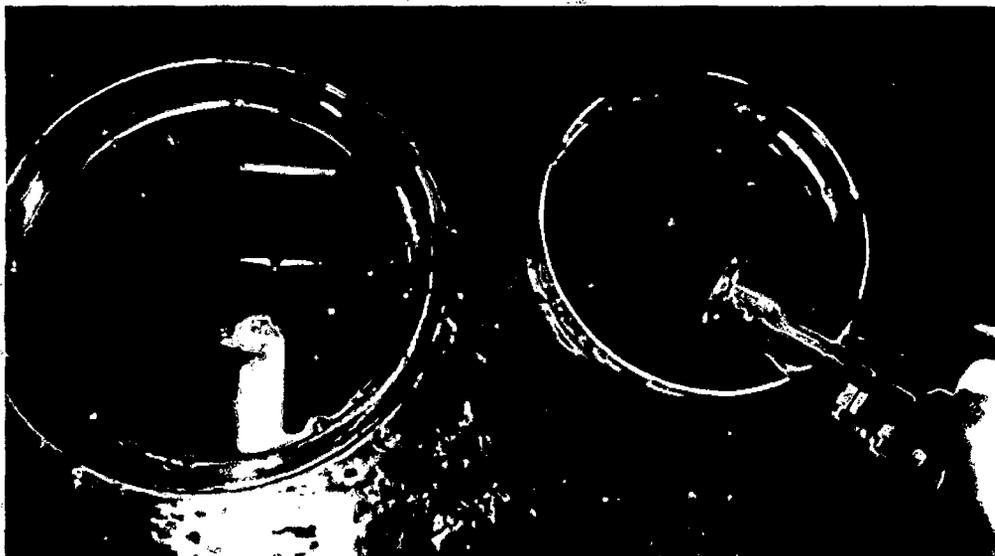
ELABORACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO



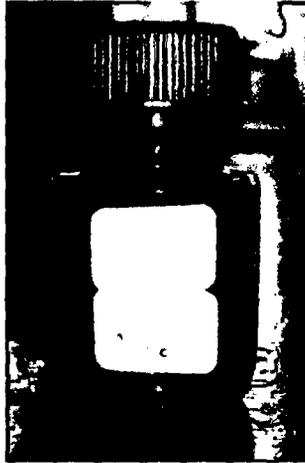
ELABORACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO



ELABORACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO



ELABORACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO



PRUEBA DE SOLUBILIDAD*(Pelargonium x hortorum L.H. Bailey)*

solvente	Resultado
Etanol	(+++)
Butanol	(++++)
cloroformo	(++)
Metanol	(++)
Agua	(+)
Diclorometano	(++)
N-hexano	(++)

Leyenda:

(-) No presenta o ausente

(+) Presente

(++) Regular

(++) Bastante

(++) Abundante

ANÁLISIS FITOQUÍMICO

(*Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey)

Metabolitos	Reacción	Resultado
Carbohidratos	Felling B	(+ + +)
Fenoles	Cl ₃ fe	(+ + +)
Taninos	Gelatina	(+ +)
Aminoácidos libres y grupos amino	Ninhidrina	(+)
Flavonoides	Shinoda	(+ +)
Triterpenoides y esteroides	Lieberman- Burchard	(+ + +)
Naftoquinonas, antronas y antranonas	Borntrager	(+)
Alcaloides	Dragendorff	(+)
Antocianinas	Rosenheim	(+)

Leyenda:

(-) No presenta o ausente

(+) Regular

(+ +) Bastante

(+ + +) Abundante

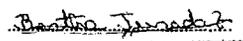
Constancia de elaboración de extracto etanólico, tamizaje fitoquímico y prueba de solubilidad

CONSTANCIA

Se deja constancia que los señores bachilleres: BELSUZARRI VICTORIO, Carlos Diego y VALDERRAMA CASTILLO, David Waldo de la Facultad de Medicina Humana EAP de Odontología de la Universidad Nacional Hermilio Valdizán, han realizado la preparación del extracto etanólico, tamizaje fitoquímico y la prueba de solubilidad para el desarrollo de su proyecto de tesis titulado: "Efectividad antibacteriana del extracto etanólico de *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey sobre cepas de *Porphyromonas gingivales*, que se realizó en el mes de enero del 2015 en el laboratorio de Farmacognosia y Medicina Tradicional de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Se expide la presente constancia para los fines que sean convenientes.

Lima, 04 de marzo de 2015.


.....
Bertha Jurada Teixeira
QUÍMICO FARMACÉUTICO
C.Q.F.P. N° 3501

ANEXO N°4

OBTENCIÓN DE LAS CEPAS DE *PORPHYROMONAS GINGIVALIS*, FLUXOGRAMA Y PRUEBA DE EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA

Informe de entrega de Cepas de Porphyromonas Gingivalis por Belomed



Belomed S.R.L.

IMPORTACION - DISTRIBUCION DE PRODUCTOS PARA LABORATORIO
Calle Juana Rofric N° 153 Dpto. 1 Urb. Perla 4ta. Etapa Lima - San Miguel
Tel.: (51-1) 566-0400 Fax: (51-1) 566-2886
e-mail: ventas@belomed.com.pe Pagina web: www.belomed.com.pe

CAL. JUANA ROFRIC
NRO. 153 DPTO. 1
URB. PERLA
4TA ETAPA LIMA
LIMA - SAN MIGUEL

R.U.C. 20160056062
GUIA DE REMISION REMITENTE
Nº 001 - 0023187

FECHA DE EMISION 23/01/15	FECHA DE INICIO DEL TRASLADO 23/01/15
----------------------------------	--

PUNTO DE LLEGADA: OFICINA BELOMED - SAN MIGUEL - LIMA

DESTINATARIO	TRANSPORTISTA
Señores: SR. DAVID VALDEFRAMA CASTILLO Dirección: FASAJE LOS CEDROS, SANTA O DE SURCO R.U.C.: 45001925	Nombre: BELOMED S.R.L. R.U.C.: 20160056062

DESCRIPCION	UNID. DE MED.	CANTIDAD	PESO
Porphyromonas gingivale ATCC® 35277 Pack x 5 Isope Código: R4609003 / Marca: REMEL / Lote: 582273 / Expiración: 30/05/2016 CC: SYS-14112617443	UND	1.00	
<p>EMPRESA PEPILANA DEL AÑO</p>			

UNIDAD DE TRANSPORTE / CONDUCTOR Vehículo, Marca y Placa Nº A08B11 - CITROEN Certificado de Inscripción Nº 2467218 Licencia de Conducir Nº Q42872365	MOTIVO DE TRASLADO 1. Venta <input checked="" type="checkbox"/> 5. Traslado por Entico liberante de Comprobantes de Pago <input type="checkbox"/> 2. Venta Sujeta a Confirmación del Comprador <input type="checkbox"/> 10. Traslado Zona Primada <input type="checkbox"/> 3. Compra <input type="checkbox"/> 11. Importación <input type="checkbox"/> 4. Consignación <input type="checkbox"/> 12. Exportación <input type="checkbox"/> 5. Devolución <input type="checkbox"/> 13. Otros <input type="checkbox"/> 6. Traslado Entre Establecimientos de la misma Empresa <input type="checkbox"/> (A) Exhibición <input type="checkbox"/> 7. Traslado de Bienes para Transformación <input type="checkbox"/> (B) Demostración <input type="checkbox"/> 8. Recajo de Bienes <input type="checkbox"/> (C) <input type="checkbox"/>	Sr. BELOMED S.R.L. Conformidad del Cliente Sr.(a)(ita):
COMPROBANTE DE PAGO Tipo: 03 Nº 001-767		

VCHIFORMAS S.A. R.U.C. 20239402863
TELEFAX: 265-7788 A.U.T. Nº 10739642223
F.x. 14-05-14 DEL 001-2250 AL 001-25500

Certificado de Calidad de cepas de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277

Thermo
SCIENTIFIC

Certificate of Quality

Product Name: *P. gingivalis* ATCC 33277 PK/5
Lot Number: 589273

Product Number: R4609008
Expiration Date: 2016-06-30
(YYYY-MM-DD)

This product has been manufactured, processed and packaged in accordance with Quality Systems Regulation, 21 CFR Part 820. Representative samples were tested per Remel Quality Control specifications and were found to meet performance criteria for this product.

Purity:

Standardized aliquots of the rehydrated product are inoculated onto nonselective media and examined for pure growth following the appropriate incubation. Selective and Differential media are also tested where applicable.

Viability And Quantification:

Each organism is recovered from the preserved state within the required time frame and at an acceptable level. Passage number is stated as the current preserved state.

Macroscopic And Microscopic Morphology:

Colony morphology is consistent with documented referenced description. Traditional staining is performed.

Biochemical Analysis:

Organism exhibits characteristic biochemical and/or enzymatic reactions. Automated and/or conventional testing was performed and results were within established limits. Antimicrobial testing performed where applicable. Results within expected ranges.

CFU/loop: >10(4)

Gram Reaction: Gram Negative Rod

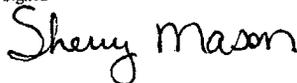
Passage: 3

Biochemical Profile: Remel RapID ANA II

Appearance: Preserved Gel Matrix suspended in inoculating loop

pH: N/A

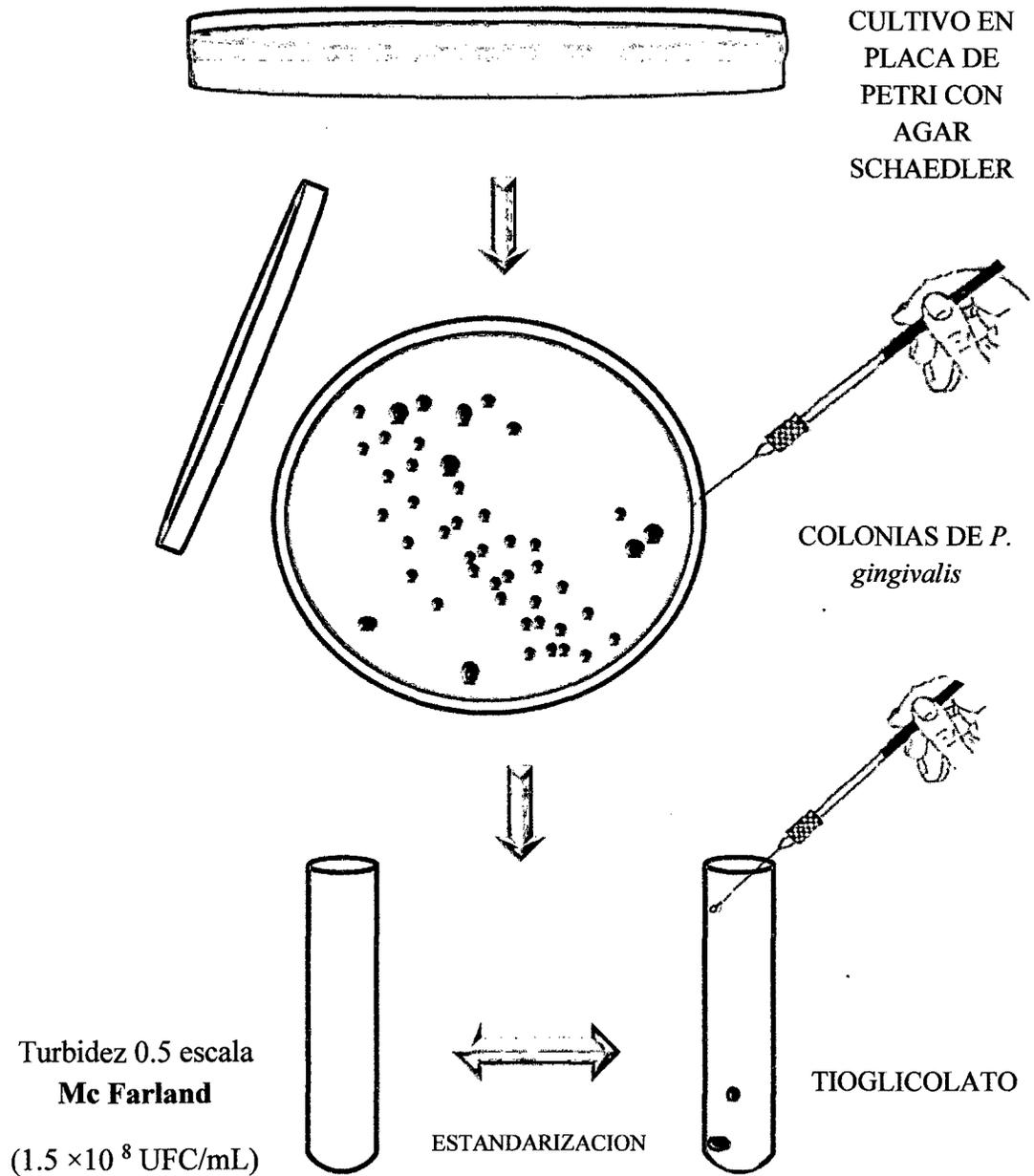
Signed



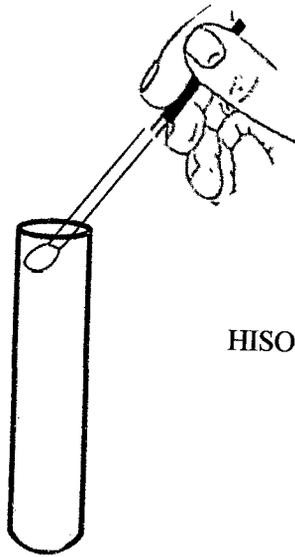
Product Performance Technologist

FLUXOGRAMA

Prueba antimicrobiana



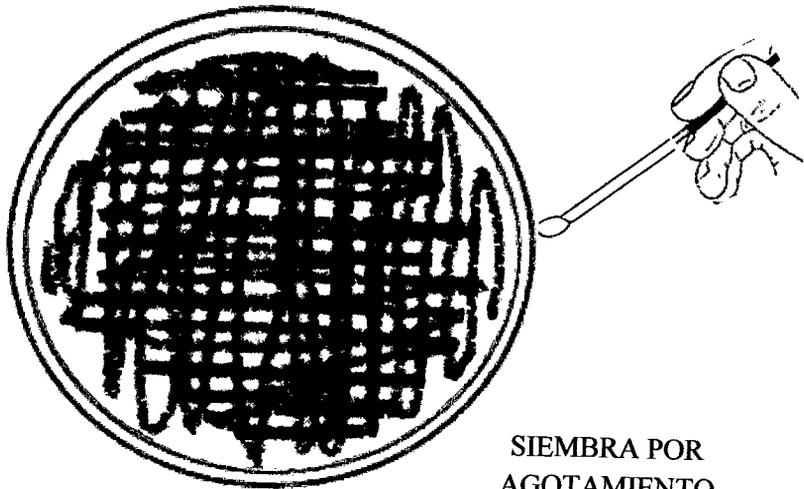
MUESTRA
ESTANDARIZADA



HISOPO

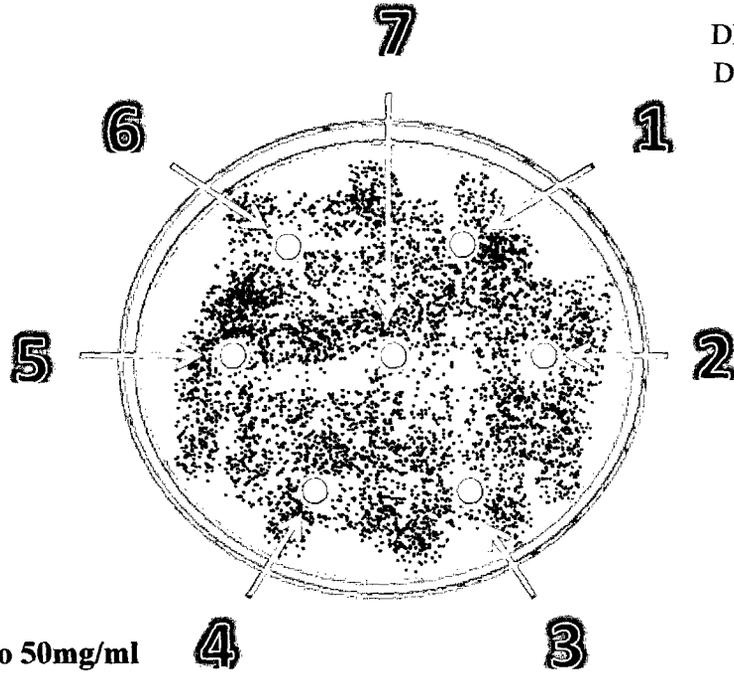


PLACA DE
PETRI CON
AGAR
SCHAEDLER



SIEMBRA POR
AGOTAMIENTO

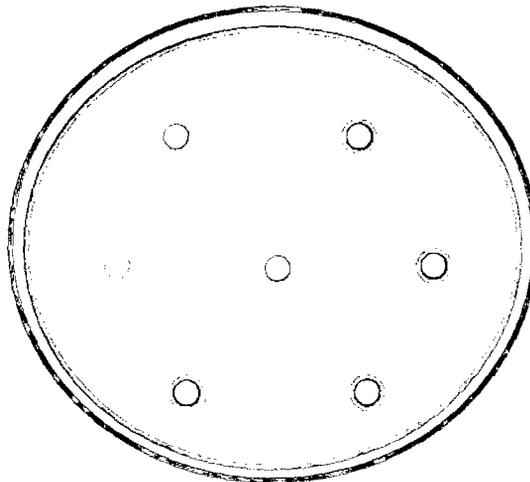
DISTRIBUCION DE LOS POZOS



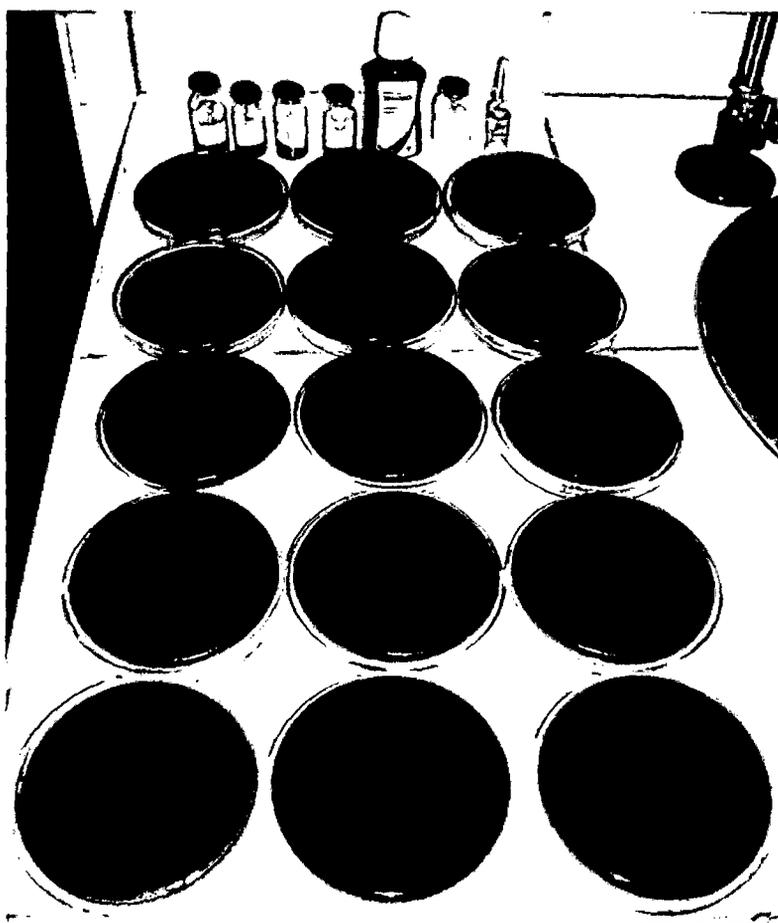
- 1. Geranio 50mg/ml
- 2. Geranio 25mg/ml
- 3. Geranio 12.5mg/ml
- 4. Geranio 6.25mg/ml
- 5. Clorhexidina
- 6. Dimetilsulfóxido
- 7. Agua destilada

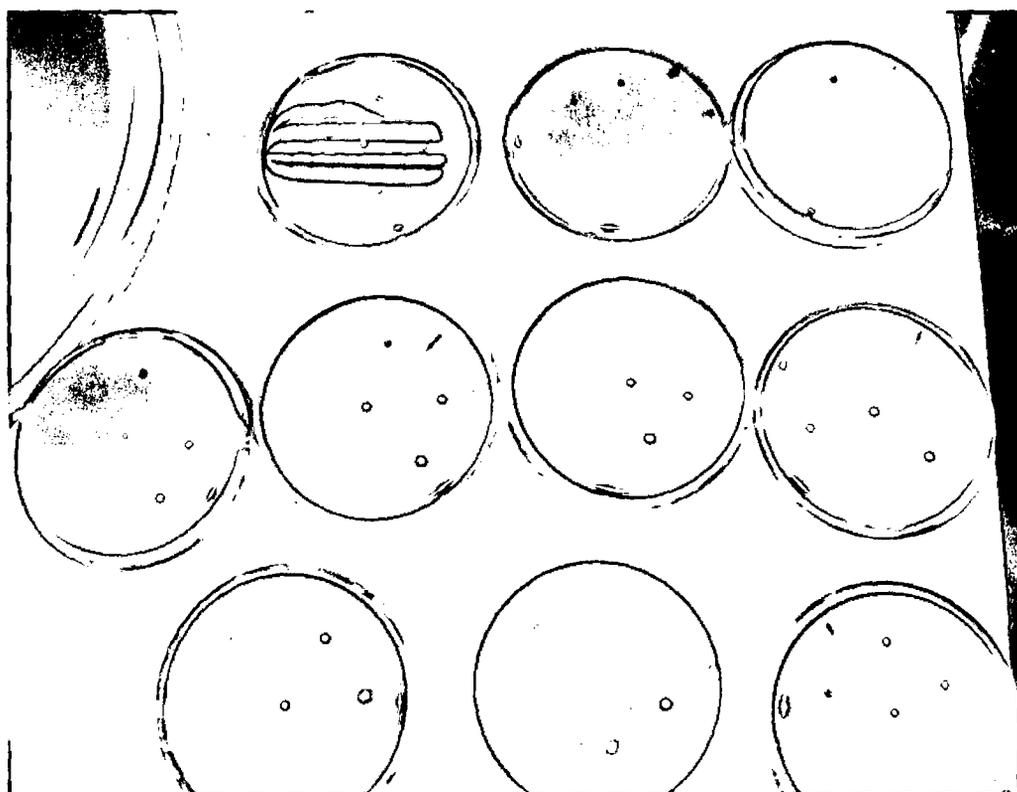
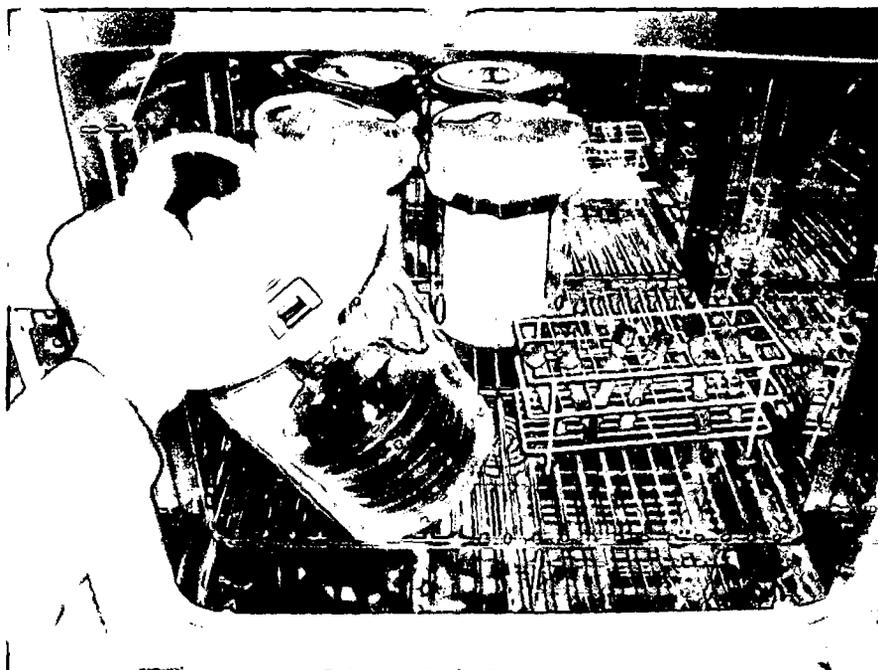


FORMACION DE LOS HALOS DE INHIBICION

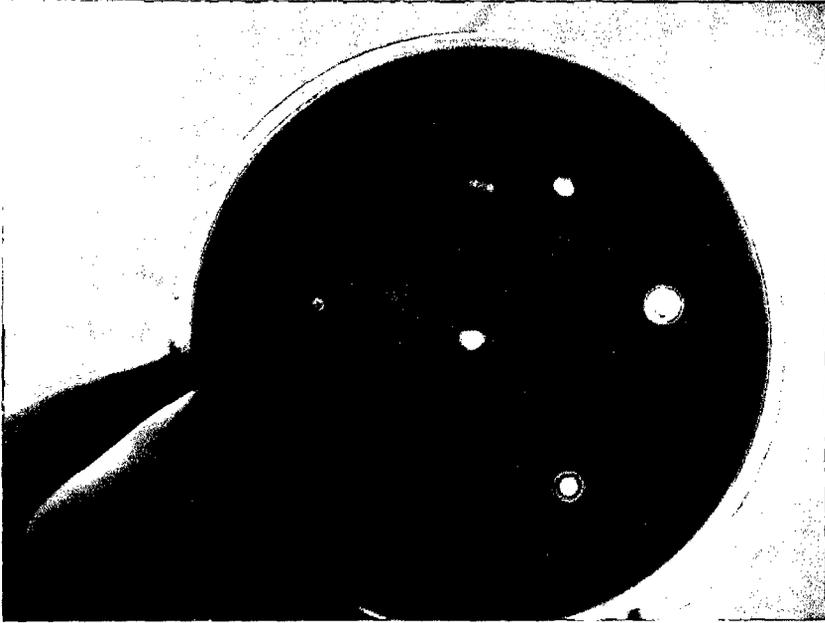


PRUEBA DE LA EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA



PRUEBA DE LA EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA

PRUEBA DE LA EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA



Constancia de Siembra in vitro bacteriana y Prueba de Sensibilidad Bacteriana

CONSTANCIA

Se deja constar que los señores Bachilleres BELSUZARRI VICTORIO, Carlos Diego y VALDERRAMA CASTILLO, David Waldo de la Facultad de Medicina Humana EAP de Odontología de la Universidad Nacional Hemilio Valdizan, han realizado la siembra in vitro bacteriana y las Pruebas de sensibilidad bacteriana para el desarrollo del proyecto de tesis titulada:

EFFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANOLICO DE PELARGONIUM X HORTORUM L.H. BAILEY SOBRE CEPAS DE PORPHYROMONAS GINGIVALES

Que se llevó a cabo el mes de marzo del 2015 en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Científica del Sur, a cargo del microbiólogo Elfer Valdivia Paz- Soldan.

Se expide la presente constancia para los fines que sean convenientes.

Lima, 14 de Abril del 2015.


ELFER VALDIVIA PAZ-SOLDAN
BIOLOGO MICROBIÓLOGO
C.B.P. 4465

ANEXO N°5

**VALIDACIÓN DE FICHA DE
RECOLECCIÓN DE DATOS, MATRIZ
DE CONSISTENCIA**

INFORME DE OPINION DE EXPERTOS DEL INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS

DATOS GENERALES

1. APELLIDOS Y NOMBRES DEL EXPERTO: Delgado Huaco Oscar
2. GRADO ACADÉMICO: Especialidad de Psicología y Neuropsicología
3. CARGO E INSTITUCION DONDE LABORA: ESSALUD Hospital de Emergencias Grau
4. NOMBRE DEL PROYECTO DE INVESTIGACION: "EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *PELARGONIUM X HORTORUM* L.H. Bailey SOBRE CEPAS DE *PORPHYROMONAS GINGIVALIS*".
5. NOMBRE DEL INSTRUMENTO: FICHA
6. UTILIDAD: RECOLECCION DE DATOS

ASPECTOS DE LA VALIDACION

INDICADORES DE EVALUACION DEL INSTRUMENTO	CRITERIOS CUALITATIVO/CUANTITATIVO	DEFICIENTE	REGULAR	BUENO	MUY BUENO	EXCELENTE
		1	2	3	4	5
1. CLARIDAD	ESTA FORMULADO CON LENGUAJE APROPIADO.				✓	
2. OBJETIVIDAD	ESTA EXPRESADO EN CONDUCTAS OBSERVABLES.					✓
3. ACTUALIDAD	ADECUADO ALCANCE DE LA CIENCIA Y LA TECNOLOGIA.					✓
4. ORGANIZACION	EXISTE UNA ORGANIZACIÓN LOGICA.				✓	
5. SUFICIENCIA	COMPRENDE LOS ASPECTOS EN CANTIDAD Y CALIDAD.					✓
6. INTENCIONALIDAD	ADECUADO PARA VALORAR LOS ASPECTOS Y ESTRATEGIA DE NUEVO ENFOQUE EDUCACIONAL.				✓	
7. CONSISTENCIA	BASADO EN ASPECTOS TEORICOS CIENTIFICOS DE LA EDUCACION TECNOLÓGICA.					✓
8. COHERENCIA	ENTRE LAS VARIABLES, INDICADORES Y DEMENCIONES.					✓
9. METODOLOGIA	LA ESTRATEGIA RESPONDE AL PROPOSITO DEL DIAGNOSTICO.					✓
10. CONVENIENCIA	ADECUADO PARA RESOLVER EL PROBLEMA.					✓
11. PAUSABILIDAD	GENERA NUEVAS PAUTAS PARA CONSTRUIR UNA TEORIA.					✓
PROMEDIO DE VALORACION CUANTITATIVA						

a) Valoración cuantitativa:

DE 11-21	NO VALIDO, MEJORAR	
DE 22-32	NO VALIDO, MODIFICAR	
DE 33-43	VALIDO, MEJORAR	
DE 44-45	VALIDO, APLICAR	✓

b) Valoración cualitativa:

c) Opción de aplicabilidad:

FIRMA _____

Lima, 13 de 08 del 2015

Dr. OSCAR DELGADO HUACO
 ESPECIALIDAD DE NEUROPSICOLOGIA
 CATEDRA DE PSICOLOGIA
 HOSPITAL DE EMERGENCIAS GRAU

INFORME DE OPINION DE EXPERTOS DEL INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS

DATOS GENERALES

1. APELLIDOS Y NOMBRES DEL EXPERTO: ARANA AGUILAR ZULSA AURORA
2. GRADO ACADÉMICO: CIRUJANO DENTISTA
3. CARGO E INSTITUCION DONDE LABORA: CIRUJANO DENTISTA - ESSALUD
4. NOMBRE DEL PROYECTO DE INVESTIGACION: "EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *PELARGONIUM X HORTORUM* L.H. Bailey SOBRE CEPAS DE *PORPHYROMONAS GINGIVALIS*".
5. NOMBRE DEL INSTRUMENTO: FICHA
6. UTILIDAD: RECOLECCION DE DATOS

ASPECTOS DE LA VALIDACION

INDICADORES DE EVALUACION DEL INSTRUMENTO	CRITERIOS CUALITATIVO/CUANTITATIVO	DEFICIENTE	REGULAR	BUENO	MUY BUENO	EXCELENTE
		1	2	3	4	5
1. CLARIDAD	ESTA FORMULADO CON LENGUAJE APROPIADO.				✓	
2. OBJETIVIDAD	ESTA EXPRESADO EN CONDUCTAS OBSERVABLES.					✓
3. ACTUALIDAD	ADECUADO ALCANCE DE LA CIENCIA Y LA TECNOLOGIA.				✓	
4. ORGANIZACION	EXISTE UNA ORGANIZACIÓN LOGICA.					✓
5. SUFICIENCIA	COMPRENDE LOS ASPECTOS EN CANTIDAD Y CALIDAD.				✓	
6. INTENCIONALIDAD	ADECUADO PARA VALORAR LOS ASPECTOS Y ESTRATEGIA DE NUEVO ENFOQUE EDUCACIONAL.					✓
7. CONSISTENCIA	BASADO EN ASPECTOS TEORICOS CIENTIFICOS DE LA EDUCACION TECNOLOGICA.				✓	
8. COHERENCIA	ENTRE LAS VARIABLES, INDICADORES Y DEMENCIONES.					✓
9. METODOLOGIA	LA ESTRATEGIA RESPONDE AL PROPOSITO DEL DIAGNOSTICO.				✓	
10. CONVENIENCIA	ADECUADO PARA RESOLVER EL PROBLEMA.					✓
11. PAUSABILIDAD	GENERA NUEVAS PAUTAS PARA CONSTRUIR UNA TEORIA.				✓	
PROMEDIO DE VALORACION CUANTITATIVA						

a) Valoración cuantitativa:

DE 11 -21	NO VALIDO, MEJORAR	
DE 22-32	NO VALIDO, MODIFICAR	
DE 33-43	VALIDO, MEJORAR	
DE 44-45	VALIDO, APLICAR	✓

b) Valoración cualitativa:

c) Opción de aplicabilidad:

FIRMA: 

Lima, 15 de 03 del 2015

.....
 En la ciudad de Lima, a los días del mes de del 2015.
 Hecho en la Oficina de Asesoría Jurídica del Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas.

Validación de Ficha de Recolección de Datos

Índice Kappa de Cohen

Concordancia Interexaminadores

Nº de casos
válidos: 10

Coefficiente kappa	Fuerza de la concordancia
0,00	Pobre (<i>Poor</i>)
0,01 - 0,20	Leve (<i>Slight</i>)
0,21 - 0,40	Aceptable (<i>Fair</i>)
0,41 - 0,60	Moderada (<i>Moderate</i>)
0,61 - 0,80	Considerable (<i>Substantial</i>)
0,81 - 1,00	Casi perfecta (<i>Almost perfect</i>)

Medida de acuerdo

	Kappa (valor)	Error típ. Asint. ^a	T aproximada ^b	Sig. aproximada
Biólogo / Investigador 1	0,846	0,144	3,809	0,000
Biólogo / Investigador 2	0,846	0,144	3,809	0,000

a. Asumiendo la hipótesis alternativa.

b. Empleando el error típico asintótico basado en la hipótesis nula.

Concordancia Intraexaminador

Nº de casos
válidos: 10

Coefficiente kappa	Fuerza de la concordancia
0,00	Pobre (<i>Poor</i>)
0,01 - 0,20	Leve (<i>Slight</i>)
0,21 - 0,40	Aceptable (<i>Fair</i>)
0,41 - 0,60	Moderada (<i>Moderate</i>)
0,61 - 0,80	Considerable (<i>Substantial</i>)
0,81 - 1,00	Casi perfecta (<i>Almost perfect</i>)

Medida de acuerdo

	Kappa (valor)	Error típ. Asint. ^a	T aproximada ^b	Sig. aproximada
Investigador 1	0,821	0,154	3,575	0,000
Investigador 2	0,831	0,156	3,573	0,000

a. Asumiendo la hipótesis alternativa.

b. Empleando el error típico asintótico basado en la hipótesis nula.

Ficha de Recolección de Datos

Ficha de recolección de datos por medición en milímetros de los halos de inhibición

Fecha:

Cepa en estudio:

C U L T I V O S	Extracto etanólico de <i>Pelargonium x hortorum</i> L.H. Bailey				Sustancias control		
	50mg/ml	25mg/ml	12.5mg/ml	6.25mg/ml	Clorhexidina 0.12%	Diemetil sulfoxido	Agua destilada
	72h	72h	72h	72h	72h	72h	72h
Cultivo nº 1							
Cultivo nº 2							
Cultivo nº 3							
Cultivo nº 4							
Cultivo nº 5							
Cultivo nº 6							
Cultivo nº 7							
Cultivo nº 8							
Cultivo nº 9							
Cultivo nº 10							
Cultivo nº 11							
Cultivo nº 12							
Cultivo nº 13							
Cultivo nº 14							
Cultivo nº 15							
Cultivo nº 16							
Cultivo nº 17							
Cultivo nº 18							
Cultivo nº 19							
Cultivo nº 20							
Cultivo nº 21							
Cultivo nº 22							
Cultivo nº 23							
Cultivo nº 24							
Cultivo nº 25							

Matriz de Consistencia

EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *PERLARGONIUM X HOTORUM* L.H. Bailey SOBRE CEPAS DE *PORPHYROMONAS GINGIVALIS*

Formulación Del Problema	Objetivo General	Objetivos Específicos	Hipótesis	Variables	Metodología
¿Cuál será la efectividad antibacteriana del extracto etanólico de <i>Pelargonium x hortorum</i> L.H. Bailey en diferentes concentraciones sobre cepas de <i>Porphyromonas gingivalis</i> ?	Evaluar la efectividad antibacteriana del extracto etanólico de <i>Pelargonium x hortorum</i> L.H. Bailey en diferentes concentraciones sobre cepas de <i>Porphyromonas gingivalis</i> .	<ul style="list-style-type: none"> - Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de <i>Pelargonium x hortorum</i> L.H. Bailey en diferentes concentraciones y las sustancias control sobre cepas de <i>Porphyromonas gingivalis</i>. - Comparar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de <i>Pelargonium x hortorum</i> L.H. Bailey en diferentes concentraciones sobre cepas de <i>Porphyromonas gingivalis</i>. - Comparar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de <i>Pelargonium x hortorum</i> L.H. Bailey a la concentración de 6,25 mg/ml y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de <i>Porphyromonas gingivalis</i>. - Comparar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de <i>Pelargonium x hortorum</i> L.H. Bailey a la concentración de 12,5 mg/ml y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de <i>Porphyromonas gingivalis</i>. - Comparar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de <i>Pelargonium x hortorum</i> L.H. Bailey a la concentración de 25 mg/ml y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de <i>Porphyromonas gingivalis</i>. - Comparar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de <i>Pelargonium x hortorum</i> L.H. Bailey a la concentración de 50 mg/ml y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de <i>Porphyromonas gingivalis</i>. - Comparar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de <i>Pelargonium x hortorum</i> L.H. Bailey en diferentes concentraciones y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de <i>Porphyromonas gingivalis</i>. 	<p>Hi: EL extracto etanólico de <i>Pelargonium x hortorum</i> L.H. Bailey en diferentes concentraciones presenta efectividad antibacteriana sobre cepas de <i>Porphyromonas gingivalis</i>.</p> <p>Ho: EL extracto etanólico de <i>Pelargonium x hortorum</i> L.H. Bailey en diferentes concentraciones no presenta efectividad antibacteriana sobre cepas de <i>Porphyromonas gingivalis</i>.</p>	<p>Variable Independiente: - Extracto etanólico del <i>Pelargonium x hortorum</i> L.H. Bailey</p> <p>Variable Dependiente: - Efectividad antibacteriana del <i>Pelargonium x hortorum</i> L.H. Bailey sobre cepas de <i>Porphyromonas gingivalis</i>.</p> <p>Variables control</p> <ul style="list-style-type: none"> • Control positivo - Gluconato de Clorhexidina 0.12% • Control negativo - Dimetilsulfóxido (DMSO) - Agua destilada 	<p>Nivel de investigación: - Intermedio Explicativo.</p> <p>Tipo de investigación: - Cuantitativo.</p> <p>Diseño de la Investigación. - Experimental. - Comparativo. - In vitro</p> <p>Población y muestra Población Conformada por bacterias periodontopatógenas Gram negativas</p> <p>Muestra no probabilística intencional - Cepa Estandarizada de <i>Porphyromonas gingivalis</i> (ATCC 33277) - Hojas de <i>Pelargonium x hortorum</i> L.H. Bailey, obtenidas del jardín botánico de plantas medicinales del Instituto Nacional de Salud.</p> <p>Instrumento de recolección de datos - Ficha de recolección de datos.</p> <p>Prueba de Hipótesis - T de Student - Anova</p>



UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILO VALDIZÁN DE HUÁNUCO
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO
PROFESIONAL DE CIRUJANO DENTISTA

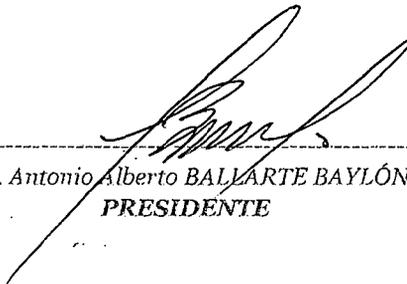
En Cayhuayna, a los **10** días del mes de **JUNIO** del año dos mil quince, siendo las **10** horas con **30** minutos, y de acuerdo al Reglamento de Grados y Títulos de la UNHEVAL, se reunieron en el aula N° 301 de la EAP de Odontología, los miembros del Jurado Calificador de tesis, nombrados con Resolución N° 124-2015-UNHEVAL-FM-D, de fecha 25 May. 2015, para proceder con la evaluación de la Tesis titulada: "EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANOLICO DE PELARGONIUM X HORTORUM L.F. Bailey SOBRE CEPAS DE PORPHYROMONAS GINGIVALIS", elaborado por las Bachilleres en Odontología **BELSUZARRI VICTORIO, Carlos Diego y VALDERRAMA CASTILLO, David Waldo.**

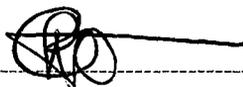
El Jurado Calificador de Tesis está conformado por los siguientes docentes:

+ Mg. Antonio Alberto BALLARTE BAYLÓN	Presidente
+ CD. Rafael CACHAY CHÁVEZ	Secretario
+ CD. Víctor Abraham AZAÑEDO RAMÍREZ	Vocal
+ CD. César Lincoln GONZÁLES SOTO	Accesitario

Finalizado el acto de sustentación de Tesis, el Presidente del Jurado Evaluador indica a los sustentantes y al público presente retirarse de la sala de sustentación por un espacio de cinco minutos para deliberara y emitir la calificación final, quedando **Aprobado** los sustentantes **BELSUZARRI VICTORIO, Carlos Diego y VALDERRAMA CASTILLO, David Waldo**, con la nota de **18** equivalente a **Muy bueno**, con lo cual se da por concluido el proceso de sustentación de Tesis a horas **12:30**, en fe de lo cual firmamos.

Cayhuayna, junio **10** del 2015


Mg. Antonio Alberto BALLARTE BAYLÓN
PRESIDENTE


CD. Rafael CACHAY CHÁVEZ
SECRETARIO


CD. Víctor Abraham AZAÑEDO RAMÍREZ
VOCAL

- Bueno (14,15 y 16)
- Muy Bueno (17 y 18)
- Excelente (19 y 20)