

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



**“Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico del cinnamomum zeylanicum (CANELA) sobre el *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 y *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277. Tacna, 2021”.**

**TESIS:**

**Presentado por:**

Bach. Marily Milagro, Gonzales Ayala  
(0009-0008-2797-6368)

**Asesor:** Mag. Karina Portugal Motocanche  
(0000-0002-5803-0582)

Para optar por el título profesional de:  
Cirujano Dentista

Tacna – 2023

## DEDICATORIA

*A mis padres Francis y César por su amor infinito, su valiosa compañía a lo largo de todo este tiempo y por enseñarme con el ejemplo a nunca dejar de crecer.*

*A mis hermanos por su apoyo incondicional ante situaciones de tensión. A mi hermano Ronald que está en cielo.*

*A mis sobrinos quienes sin saberlo me han acompañado en este proceso y con su magia han podido transformar mis días oscuros, en días de luz.*

## **AGRADECIMIENTOS**

*En primer lugar, a Dios porque estoy segura que guió mis pasos durante mi proceso de formación como profesional, por concederme momentos de alegría y por darme fortaleza frente a cada adversidad.*

*A mis padres y hermanos por su esfuerzo, palabras de aliento y la confianza depositada en mi durante todo este tiempo.*

*A mi asesora la Mag. Karina Portugal Motocanche por su tiempo, consejos y su ayuda para desarrollar el proyecto de investigación.*

*Al Blgo. Edwin Obando Velarde por su buena disposición y por compartir sus conocimientos durante la ejecución del estudio.*

*A mis jurados Mag. Angela Aquize, Mag. Fernando Espada, Mag. Fiorella Andía por enriquecer mi trabajo de investigación con sus observaciones.*

*A mi alma máter la Universidad Privada de Tacna y a mis docentes que han sido parte de mi camino universitario, gracias por sus palabras, disciplina y por transmitir sus conocimientos. Finalmente, gracias a todos aquellos que contribuyeron a hacer posible este trabajo.*

DECLARACIÓN JURADA DE ORIGINALIDAD

Yo, Marily Milagro Gonzales Ayala, en calidad de Bachiller de la Escuela Profesional de Odontología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Privada de Tacna, identificado con DNI 71472715, declaro bajo juramento que:

1. Soy autor de la tesis titulada:

"Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico del *Cinnamomum zeylanicum* (CANELA) sobre el *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 y *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277. Tacna, 2021"

Asesorada por Mag. Karina Portugal Motocanche, la cual presente para optar el: Título Profesional de Cirujano Dentista.

2. La tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente, habiéndose respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas.

3. La tesis presentada no atenta contra los derechos de terceros.

4. La tesis no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.

5. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falsificados, ni duplicados, ni copiados.

Por lo expuesto, mediante la presente asumo frente a La Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse por la autoría, originalidad y veracidad del contenido de la tesis, así como por los derechos sobre la obra.

En consecuencia, me hago responsable frente a La Universidad de cualquier responsabilidad que pudiera ocasionar, por el incumplimiento de lo declarado o que pudiera encontrar como causa del trabajo presentado, asumiendo todas las cargas pecuniarias que pudieran derivarse de ello a favor de terceros con motivo de acciones, reclamaciones o conflictos derivados del incumplimiento de lo declarado o las que encontrasen causa en el contenido de la tesis.

De identificarse fraude, piratería, plagio, falsificación o que el trabajo de investigación haya sido publicado anteriormente; asumo las consecuencias y sanciones que de nuestra acción se deriven, sometiéndonos a la normatividad vigente de la Universidad Privada de Tacna.



DNI: 71472715

Fecha: 29-11-2023

## RESUMEN

**Objetivo:** Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) sobre *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 y *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277. **Material y método:** El estudio fue experimental, en el cual se elaboró extracto etanólico de *Cinnamomum zeylanicum* (EEC) a diferentes concentraciones frente a *Fusobacterium nucleatum* (Fn) ATCC 25586 y *Porphyromona gingivalis* (Pg) ATCC 33277. El EEC se obtuvo por maceración en alcohol de 70°/45d y fue diluido con agua destilada para obtener concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100%, como control positivo se usó Clorhexidina al 0.12%. Se realizó la prueba de difusión de disco de Kirby Bauer sobre medios de Mueller Hinton Agar (MHA), inoculadas con Fn y Pg por 24 horas a 37°C bajo anaerobiosis total. Posteriormente se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB). **Resultados:** Del estudio por cromatografía se evidenció metabolitos secundarios. Se determinó efecto antibacteriano sobre *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 en todas las concentraciones, al 100% de concentración fue 12,33mm halos de inhibición, y sobre *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277 con valores de 21,5263mm para una concentración al 100%. Se determinó que la CMI sobre *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 es 29,4084 mg/ml y la CMB es 31.509 mg/ml; mientras que *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277 la CMI y CMB es 14,7042 mg/ml. **Conclusión:** Se evidenció efecto antibacteriano en todas las concentraciones de extracto etanólico de *cinnamomum zeylanicum* sobre *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, teniendo un mayor efecto sobre *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277.

**Palabras clave:** Agente antibacteriano, extracto etanólico de *Cinnamomum Zeylanicum*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromona gingivalis*.

## ABSTRACT

**Objective:** Determine the in vitro antibacterial effect of the ethanolic extract of Cinnamomum zeylanicum (cinnamon) on *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 and *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277. **Material and method:** The study was experimental, in which ethanolic extract of Cinnamomum zeylanicum (EEC) was prepared at different concentrations against *Fusobacterium nucleatum* (Fn) ATCC 25586 and *Porphyromona gingivalis* (Pg) ATCC 33277. The EEC was obtained by maceration in 70° alcohol /45d and was diluted with distilled water to obtain concentrations of 25%, 50%, 75% and 100%, 0.12% Chlorhexidine was used as a positive control. The Kirby Bauer disk diffusion test was performed on Mueller Hinton Agar (MHA) media, inoculated with Fn and Pg for 24 hours at 37°C under total anaerobiosis. Subsequently, it was determined the Minimum Inhibitory Concentration (CMI) and Minimum Concentration bactericide (CMB). **Results:** The chromatography study revealed secondary metabolites. The antibacterial effect on *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 was determined in all its concentrations, to 100% concentration was 12.33 mm inhibition halos, and for *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277 with values of 21.5263 mm for a 100% concentration. It was determined that the MIC on *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 is 29,4084 mg/mL and the CMB is 31,509 mg/mL; while *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277 the MIC and CMB is 14,7042 mg/mL. **Conclusion:** Antibacterial effect was evident in all concentrations of Cinnamomum zeylanicum ethanolic extract on *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, having a greater effect on *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277.

**Key words:** Antibacterial agent, ethanolic extract of Cinnamomum Zeylanicum, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromona gingivalis*.

# ÍNDICE

<b>DEDICATORIA</b>	<b>2</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	<b>3</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>5</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>6</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	<b>10</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>12</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>13</b>
<b>CAPÍTULO I EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN</b>	<b>15</b>
1.1 FUNDAMENTACIÓN DEL PROBLEMA	15
1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	16
1.3 OBJETIVO DE LA INVESTIGACIÓN	16
1.3.1. OBJETIVO GENERAL	16
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
1.4 JUSTIFICACIÓN	18
<b>CAPÍTULO II REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>20</b>
2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	20
2.2 MARCO TEÓRICO	26
2.2.1 ENFERMEDAD PERIODONTAL	26
2.2.2 <i>FUSOBACTERIUM NUCLEATUM</i>	28
2.2.3 <i>PORPHYROMONA GINGIVALIS</i>	29
2.2.4 CINNAMOMUM ZEYLANICUM	30
2.2.5 CLORHEXIDINA	32
2.2.6 ANTIBIOGRAMA	33

<b>CAPÍTULO III HIPÓTESIS, VARIABLES Y DEFINICIONES OPERACIONALES</b>	<b>35</b>
3.1 HIPÓTESIS	35
3.2 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	36
<b>CAPÍTULO IV METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN</b>	<b>37</b>
4.1 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	37
4.2 ÁMBITO DE ESTUDIO	38
4.3 MUESTRA Y UNIDAD DE ESTUDIO	38
4.3.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN	38
4.3.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	38
4.4 INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	39
4.5. MATERIALES DE LABORATORIO	39
<b>CAPÍTULO V PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS DE DATOS</b>	<b>42</b>
5.1 RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA	42
5.2 OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE CINNAMOMUM ZEYLANICUM (CANELA)	43
5.3 OBTENCIÓN DE CEPAS BACTERIANAS	44
5.4 PREPARACIÓN DE LOS DISCOS DE SENSIBILIDAD	47
5.5 DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD ANTIBACTERIANA POR EL MÉTODO DE KIRBY BAUER	47
5.6 LECTURA	49
5.7 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA(CMI)	50
5.8 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA(CMB)	52
5.9 CROMATOGRAFÍA	53
5.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	53

<b>CAPÍTULO VI RESULTADOS</b>	<b>55</b>
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>75</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>79</b>
<b>RECOMENDACIONES</b>	<b>81</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>82</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>89</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

**TABLA 1:** Estadística descriptiva del efecto antibacteriano del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) a diferentes concentraciones frente a *FUSOBACTERIUM NUCLEATUM* ATCC 25586.

**TABLA 2:** Resultados de los estadísticos descriptivos del efecto antibacteriano del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) a diferentes concentraciones frente a *PORPHYROMONA GINGIVALIS* ATCC 33277.

**TABLA 3:** Resultados de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) frente a *FUSOBACTERIUM NUCLEATUM* ATCC 25586.

**TABLA 4:** Resultados de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) frente a *PORPHYROMONA GINGIVALIS* ATCC 33277.

**TABLA 5:** Resultados de la concentración mínima bactericida (CMB) del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) frente a *FUSOBACTERIUM NUCLEATUM* ATCC 25586.

**TABLA 6:** Resultados de la concentración mínima bactericida (CMB) del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) frente a *PORPHYROMONA GINGIVALIS* ATCC 33277.

**TABLA 7:** Comparación del efecto antibacteriano del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) en diferentes concentraciones con clorhexidina al 0.12% frente a *FUSOBACTERIUM NUCLEATUM* ATCC 25586 Y *PORPHYROMONA GINGIVALIS* ATCC 33277.

**TABLA 8:** Pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk para muestras del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) frente a *FUSOBACTERIUM NUCLEATUM* ATCC 25586.

**TABLA 9:** Resultados del análisis de varianza

**TABLA 10:** Comparaciones múltiples, prueba de Post Hoc, de Tukey

**TABLA 11:** Pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk para muestras del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) frente a *PORPHYROMONA GINGIVALIS* ATCC 33277

**TABLA 12:** Resultados del análisis de varianza

**TABLA 13:** Comparaciones múltiples, prueba de Post Hoc, de Tukey

## ÍNDICE DE FIGURAS

**FIGURA 1:** Diagrama de cajas y bigotes del efecto antibacteriano del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) a diferentes concentraciones frente a *FUSOBACTERIUM NUCLEATUM* ATCC 25586.

**FIGURA 2:** Diagrama de cajas y bigotes del efecto antibacteriano del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) a diferentes concentraciones frente a *PORPHYROMONA GINGIVALIS* ATCC 33277.

**FIGURA 3:** Intervalos de confianza del efecto antibacteriano del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) en diferentes concentraciones con clorhexidina al 0.12% frente a *FUSOBACTERIUM NUCLEATUM* ATCC 25586.

**FIGURA 4:** Intervalos de confianza del efecto antibacteriano del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) en diferentes concentraciones con clorhexidina al 0.12% frente a *PORPHYROMONA GINGIVALIS* ATCC 33277.

**FIGURA 5:** Comparación del efecto antibacteriano del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) en diferentes concentraciones con clorhexidina al 0.12% frente a *FUSOBACTERIUM NUCLEATUM* ATCC 25586 Y *PORPHYROMONA GINGIVALIS* ATCC 33277.

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad es considerada a la enfermedad periodontal como una de las enfermedades más comunes en la población y un problema de salud pública, debido a su etiología multifactorial. Además, está relacionada a enfermedades como la diabetes, hipertensión, y partos prematuros, teniendo como causa principal la presencia de microorganismos en la placa bacteriana localizado a nivel del surco gingival de los dientes. (1)

Sin embargo, el alineamiento dental, el cepillado dental y la higiene oral toman un papel importante para la introducción de la bacteria, por promover un medio inflamatorio adecuado para la proliferación bacteriana siendo ampliamente estudiada para determinar su etiología, desde 1830. (2)

Según la reacción del huésped ante esta enfermedad se pueden realizar varios tipos de tratamientos como terapias clínicas manuales las cuales pueden ser reforzadas con terapias antibióticas. (3)

La organización mundial de la salud (OMS) considera que el 45% de la población es afectada por enfermedades bucodentales (4). Se encuentran en la cavidad oral alrededor de 700 tipos de especies de bacterias y 50 de ellas se reconocen como factor etiológico de la patología periodontal. (5)

La *Porphyromona gingivalis* es considerada como una de las más patógenas a pesar de la variabilidad de bacterias que existen en cuanto al área geográfica o etnia, y el *Fusobacterium nucleatum* es considerada como uno de sus principales agentes patógenos, asociado fuertemente con el establecimiento y mantenimiento del biofilm por su gran capacidad para promover la coagregación bacteriana. (6)(7)

El uso de las plantas como tratamiento alternativo está siendo ampliamente estudiado en base a aceites esenciales, ungüentos así también en extractos, el

*cinnamomum zeylanicum* (CANELA) muestra actividad antibacteriana contra bacterias y hongos por las propiedades que presenta en aceites esenciales con excelentes resultados frente a especies bacterianas, pero este no es el único método para obtener sus propiedades como un potente agente antibacteriano natural, por eso es de importancia realizar este estudio para prevenir y disminuir la incidencia de las enfermedades utilizando también la medicina alternativa, y sobre todo concientizar a los demás sobre temas que nos competen a todos como sociedad. (8)

## CAPÍTULO I

### EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

#### 1.1 FUNDAMENTACIÓN DEL PROBLEMA

La organización mundial de la salud precisa que mil millones de personas en todo el mundo se ven afectadas por la enfermedad periodontal, y trae como consecuencia la pérdida dentaria. (4) Además, el 85% de la población nacional padece de enfermedad periodontal siendo su principal factor etiológico los malos hábitos de higiene bucal. (9)

La enfermedad periodontal es una patología inflamatoria crónica de etiología multifactorial asociado a factores locales y sistémicos. La biopelícula alberga diversos tipos de bacterias que pueden dar inicio a la enfermedad periodontal y la destrucción de las estructuras de soporte de los dientes. (10)

Entre las diversas especies bacterianas, son consideradas como una de las más involucradas la *Porphyromona gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum*, debido a su frecuencia en lesiones periodontales, y su presencia en biopelículas de placa. (11) (12)

La *Porphyromona gingivalis* es un gram negativo, anaerobio estricto, es el patógeno preponderante en la periodontitis crónica, la cual favorece a los patógenos en la invasión y resistencia a las defensas del huésped, así como su facultad de incorporarse a células periodontales además de ser un factor de riesgo para infecciones pulmonares, patologías mortales como una cardiopatía isquémica, infarto del miocardio, bajo peso al nacer, razón por la cual se toma a esta infección de impacto social. (11)

El *Fusobacterium nucleatum*, es un gram negativo, anaerobio estricto, participa en la formación de varias formas de enfermedad periodontal, estimada en segundo orden como la especie anaerobia bucal más separada de procesos infecciosos humanos. (12)

Desde 1976 la Organización Mundial de Salud (OMS), ha estado promoviendo la práctica de la medicina tradicional, con el objetivo de contribuir a las entidades sanitarias a hallar soluciones que favorezcan a un enfoque más amplio respecto al mejoramiento de la salud. (13) La canela está compuesta principalmente por sustancias antioxidantes metabolitos secundarios fenólicas, polifenólicas y cinamaldehído, además que su uso en la terapia farmacológica puede actuar como coadyuvante de otros fármacos, para el tratamiento de las diversas enfermedades (14).

En este estudio se pretende contribuir a la investigación de tratamientos alternativos, tratando el efecto de *cinnamomum zeylanicum* (canela) sobre el *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 y *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277, bacterias de importancia en la salud pública.

## **1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) sobre el *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 y la *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277?

## **1.3 OBJETIVO DE LA INVESTIGACIÓN**

### **1.3.1 OBJETIVO GENERAL**

- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) sobre el *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 y la *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277.

### 1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) al 25%, 50%, 75%, 100% sobre el ***Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586**.
- Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) al 25%, 50%, 75%, 100% sobre la ***Porphyromona gingivalis* ATCC 33277**.
- Determinar el CMI (Concentración mínima inhibitoria) y CMB (concentración mínima bactericida) del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) sobre el ***Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586** y ***Porphyromona gingivalis* ATCC 33277**.
- Comparar el efecto antibacteriano del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) con clorhexidina al 0.12% sobre el ***Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586** y ***Porphyromona gingivalis* ATCC 33277**.

## 1.4 JUSTIFICACIÓN

Los antibióticos son usados como principal fuente para el tratamiento de los diferentes microorganismos, pero su manejo excesivo llevó a contribuir su uso indiscriminado generando como consecuencia la resistencia al microorganismo y la lucha con sus efectos secundarios. La clorhexidina es uno de los tratamientos con fármacos más indicados para las bacterias patógenas en la cavidad oral, que aún tiene efectos secundarios como la alteración de la flora bacteriana y en el periodonto. (15)

Nuestro continente y país cuenta con una gran diversidad en plantas medicinales, producidas y comercializadas a nivel mundial, que fueron usadas por nuestros ancestros por sus múltiples beneficios aportando nuevos recursos terapéuticos frente a la diversidad de nuevas enfermedades que debemos enfrentar.

La necesidad de encontrar nuevas alternativas de tratamientos, conlleva a contribuir e investigar los componentes y propiedades de las plantas medicinales, en este estudio se pretende investigar la obtención práctica y simple de fuentes naturales para contrarrestar el *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 y *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277, cepas relacionadas a la enfermedad periodontal.

Teniendo en cuenta que se han realizado estudios acerca de la efectividad del aceite esencial del cinnamomum zeylanicum (CANELA) frente a patógenos orales de alta resistencia, la presente investigación tiene el propósito de determinar su efecto antibacteriano del extracto etanólico del cinnamomum zeylanicum (CANELA) sobre el *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 y *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277. El presente proyecto se encuentra en la línea de investigación de innovación tecnológica y biomateriales dentales, los resultados que se obtendrán contribuirán en las

futuras investigaciones, elaboración de medicamentos y también alternativas naturales de tratamiento para la población que es afectada por la enfermedad periodontal además contribuir a mejorar la salud del periodonto.

## CAPÍTULO II

### REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

#### 2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

##### A nivel internacional

**Yépez V, Efecto inhibitorio del extracto de cinnamomum verum (canela) y el extracto acuoso de illicium verum (anís estrellado) en cepas de *Porphyromonas gingivalis*. Estudio in vitro. Ecuador 2019.**

El trabajo de investigación fue de tipo experimental en el cual se determinó el efecto inhibitorio del extracto metanólico de la cinnamomum verum (EMC) y extracto acuoso de illicium verum (EAI) al 50%, 75%, 100% , como control positivo clorhexidina 0.12% y negativo agua destilada sobre *Porphyromonas gingivalis* en un periodo de incubación de 48 horas y medir los halos de inhibición mediante la técnica de Kirby Bauer. El EMC se obtuvo por maceración en alcohol y el EAI se obtuvo por maceración en agua desionizada estéril durante 48 horas. El análisis estadístico que se usó fue la prueba de Kruskal Wallis, Wilcoxon y Mann Whitney con un nivel de significancia de 95%. Se observó que el EAI posee actividad inhibitoria frente a *Porphyromonas gingivalis* fue 9mm, 10.88mm, 14.20mm a una concentración del 50%, 75%, 100% respectivamente y clorhexidina 0.12% se registra 14,60mm. En comparación al EMC que obtuvo halos de inhibición de 8.50mm, 12,70mm; 15,00mm a una concentración de 50%, 75%, 100% respectivamente y clorhexidina al 0.12% se registra 14,70mm pudiendo ser usadas como medicina alternativa en la prevención de la misma, se demostró efecto inhibitorio en la concentración al 100% es similar a la clorhexidina al 0.12%. (16)

**Melendez F. y cols., Inhibición de *Porphyromona gingivalis* por Cinnamomum verum E Illicium verum. México 2016.**

El estudio determinó la actividad inhibitoria del extracto metanólico de *Illicium verum* obtenido por maceración durante 14 días y extracto acuoso de *Cinnamomum verum* obtenido por maceración en agua desionizada por 30 minutos frente a la *Porphyromona gingivalis*, en consecuencia, se preparó concentraciones al 0.1 mg/mL, 1 mg/mL, 7 mg/mL, 10 mg/mL para cada extracto frente a *Porphyromona gingivalis*. Los tubos de ensayo con cultivo fueron llevados a incubación por 24 horas a 37°C. Se obtuvo resultados considerables en la concentración de 7 mg/mL en el análisis espectrofotométrico y en la cuantificación de Unidades formadoras de colonias/mL para ambos extractos. (17)

## **A nivel nacional**

**García K, Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de Cinnamomum Zeylanicum (CANELA) sobre el *Fusobacterium Nucleatum* ATCC 25586. Trujillo 2016.**

El estudio experimental tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano y bactericida del aceite esencial de cinnamomum zeylanicum (canela) sobre el *Fusobacterium nucleatum*. El método que se empleó para obtener el aceite esencial por arrastre con vapor de agua. Se obtuvo concentraciones al 5%, 25%, 50%, 75%, 100% y como control positivo (penicilina). Se utilizó la técnica difusión de discos para determinar la sensibilidad bacteriana empleando la escala de Duraffourd y para determinar el efecto bactericida a través de la presencia o ausencia de unidades formadoras de colonias. A las 24 horas de incubación la actividad antibacteriana del aceite esencial de canela para el 5% (8,25 mm), el 25% (17,42 mm), el 50% (18,67 mm), el 75% (16,17m), el 100% (15,25mm), la penicilina (29,00mm) y el efecto bactericida a partir de la concentración al 25% no registró crecimiento de colonias. Se llegó a la conclusión que el aceite esencial de canela presenta efecto antibacteriano y bactericida sobre *Fusobacterium nucleatum* concluyendo que a mayor concentración presenta mayor efecto. (18)

**Torres J, Comparación del efecto de un extracto etanólico de propóleo a dos concentraciones y del paramonoclorofenol alcanforado frente *Enterococcus Faecalis* y *Fusobacterium Nucleatum*. Lima 2019.**

El trabajo de investigación fue tipo experimental, el cual comparó el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo (EEP) al 20%, 30% con paramonoclorofenol alcanforado(PMCFA) frente a *Enterococcus Faecalis* y *Fusobacterium nucleatum*, durante este tiempo los grupos control fueron

Clorhexidina 2% y agua destilada para ello se realizó el método de Kirby Bauer. Las pruebas estadísticas usadas para determinar la normalidad de los datos fueron Kruskal Wallis y Anova. Se demostró que el EEP al 30% y 20% posee efecto antibacteriano a las 24 horas de incubación registrando un halo de inhibición de 10,32 mm, y 9,10 mm respectivamente, mientras que el PMCFA registró 9,10 mm. Después de las 48 horas de incubación se registró halos de inhibición del EEP al 30% fue 14,96 mm y para la concentración al 20% de 11,00 mm, en comparación con PMCFA que se registró 8,94 mm. Transcurridos los 7 días de incubación se observó el efecto antibacteriano sobre *Fusobacterium nucleatum* para el EEP al 30% y 20% fueron 23,17 mm y 18,89 mm respectivamente, en comparación con PMCFA su efecto fue 13,50 mm. En conclusión, se obtuvo mejores resultados del EEP al 30% seguido por la concentración al 20% y PMCFA, sobre *Enterococcus Faecalis* y *Fusobacterium nucleatum*. (19)

**Alca Y, Efectividad antifúngica in vitro individual y su asociación de los aceites esenciales *Origanum vulgare* (orégano) y *cinnamomum zeylanicum* (canela) a diferentes concentraciones sobre *Candida albicans*, Cusco 2018.**

El trabajo de investigación es experimental. Tuvo como objetivo evaluar la efectividad antifúngica in vitro individual por el método de Kirby Bauer. Para obtener el aceite esencial se utilizó el método de destilación por arrastre de vapor de agua y se preparó concentraciones al 10%, 20%, 50%, 75%, 100%, control positivo y control negativo en cepas de *Candida albicans*, la lectura se realizó a las 24 y 48 horas de incubación a 36° C. Se registró el efecto del aceite esencial de orégano frente a *Candida albicans* en las concentraciones al 10% y 20%, 50%, 75%, 100% siendo su efecto antifúngico nulo, sensible, muy sensible y altamente sensible respectivamente. El aceite esencial de canela registró efectividad en sus

concentraciones al 20%, y 50% fue sensible, al 75% y 100% fue altamente sensible sobre *Candida albicans*. Se concluyó que el aceite esencial de canela presenta efectividad antifúngica al 75% y 100% altamente sensible, mientras que para el aceite esencial de orégano al 100% es altamente sensible, en relación a la asociación de los aceites esenciales de canela y orégano al 50%, 75%, 100% su efecto fue altamente sensible. (20)

**Machaca S., Estudio in vitro comparativo de la acción antibacteriana del aceite esencial *Cinnamomum verum* (canela) y clorhexidina 0.12% en cultivos de *Fusobacterium nucleatum*. Juliaca 2019.**

Este trabajo de investigación es experimental. Su objetivo fue determinar el nivel de acción inhibitoria del aceite esencial *cinnamomum zeylanicum* sobre cepas bacterianas de *Fusobacterium nucleatum*. El aceite esencial se obtuvo por arrastre de vapor de agua, se prepararon concentraciones al 25%, 50%, 75%, 100%, como control positivo (clorhexidina 0.12%) y control negativo (agua estéril). El efecto antibacteriano se determinó empleando el método de Kirby Bauer. Se empleó la prueba estadística ANOVA para determinar la diferencia significativa en los diferentes tratamientos. A las 24 horas de incubación se registró halos de inhibición de 11,26mm; 13,24 mm, 16,07 mm; 17,38 mm para la concentración del 25%, 50%, 75%, 100% respectivamente y clorhexidina al 0.12% fue 17.96mm en cepas bacterianas de *Fusobacterium nucleatum*. A las 48 horas de incubación se registró halos de inhibición de 10.21mm, 11.05mm, 11.08mm, 12.43mm para las concentraciones al 25%, 50%, 50%, 75%, 100% respectivamente, clorhexidina 0.12% fue 12,86mm sobre cepas bacterianas de *Fusobacterium nucleatum*. Se concluyó que la canela causa efecto antibacteriano en todas sus concentraciones, pero a la concentración del 100% se obtiene un resultado similar a la Clorhexidina 0.12% (21)

**Guerrero S, Santamaría M, Actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Melissa officinallis* L. (Toronjil) y *Piper aduncun* (Matico) frente a *Fusobacterium nucleatum*, en los laboratorios de forense Lambayeque y Microclin. Trujillo 2021.**

El estudio es tipo experimental. Su objetivo fue determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Melissa officinallis* L. (toronjil) y *Piper aduncun* (matico) frente a *Fusobacterium nucleatum*, se elaboró por maceración de la planta en etanol de 96°/7d con agitación por 10 minutos 2 veces al día, luego obtener concentraciones al 100% y 50% para cada extracto, control negativo (etanol), control positivo (ciprofloxacino). Se empleó la técnica de Kirby Bauer para determinar el efecto antibacteriano, posteriormente las placas fueron incubadas por 24 horas a 35°C por anaerobiosis total. Los datos fueron exportados al programa estadístico SPSS 26.0 donde se realizó la prueba de normalidad de Shapiro Wilk, y se utilizó la prueba inferencial de Tukey para determinar el grado de correspondencia de los grupos y controles con un nivel de confianza de 95%. Se halló efecto inhibitorio en todas sus concentraciones, los halos de inhibición registrados para el extracto etanólico de Toronjil fueron 15.99mm y de 11.42mm para el 100% y 50% de concentración respectivamente, posteriormente se registraron halos de inhibición para extracto etanólico de matico de 12,97mm y 10,06mm para la concentración de 100% y 50 % respectivamente, y para el control negativo etanol se registró 6,05mm , pero los resultados no fueron mayores frente al ciprofloxacino (21,93mm). (22)

## 2.2 MARCO TEÓRICO

### 2.2.1. ENFERMEDAD PERIODONTAL

#### 2.2.1.1 Concepto

La enfermedad periodontal es una enfermedad inflamatoria crónica de origen multifactorial y unida a factores locales o de origen sistémico causan la infección de los tejidos que sostiene el diente y puede llegar a causar la pérdida de la estructura dentaria y daña el tejido blando que se encuentra alrededor del diente, en su forma inicial es una gingivitis que puede ser reversible con el tratamiento adecuado. (23)

La gingivitis es una inflamación que afecta la encía, se produce por la acumulación de bacterias en la cavidad bucal dando lugar a la placa bacteriana, ésta biopelícula bacteriana ubicada en la superficie dentaria, denominada como la forma inicial de la periodontitis. La gingivitis se caracteriza por la inflamación y coloración rojiza, sin pérdida radiográfica del periodonto o de inserción clínica, presencia de cálculo o placa, sangrado de las encías frente a un estímulo, cambios en la consistencia, aspecto y forma de la encía. (24) (25)

Existe evidencia científica que relaciona a la enfermedad periodontal con enfermedades crónicas como: diabetes, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y las enfermedades cardiovasculares, etc. (26)

**2.2.1.2 Clasificación de las enfermedades y condiciones periodontales y periimplantarias 2017 AAP (Academia Americana de Periodoncia – EFP (Federación Europea de Periodoncia): (27)**

<b>A. Salud periodontal, enfermedades y condiciones gingivales</b>	Salud periodontal y salud gingival.
	Gingivitis inducida por biopelícula dental.
	Enfermedades gingivales no inducidas por biopelícula dental.
<b>B. Formas de periodontitis</b>	Enfermedades periodontales necrosantes.
	Periodontitis como manifestación de enfermedades sistémicas.
	Periodontitis
<b>C. Manifestaciones periodontales de las enfermedades sistémicas y condiciones del desarrollo y adquiridas</b>	Enfermedades y condiciones sistémicas que afectan el aparato de inserción periodontal.
	Abscesos periodontales y lesiones endodónticas periodontales.
	Deformidades y condiciones mucogingivales alrededor de los dientes.
	Fuerzas oclusales traumáticas.
	Factores relacionados al diente y prótesis.
<b>D. Enfermedades y condiciones periimplantarias</b>	Salud periimplantaria.
	Mucositis periimplantaria.
	Periimplantitis.
	Deficiencias de los tejidos blando y duro periimplantarios

### 2.2.1.3 Etiopatogenia:

La colonización bacteriana da en consecuencia, la destrucción periodontal, es decir está asociada a bacterias principalmente anaerobias aisladas en la placa dental del surco gingival,

subgingival, lengua, saliva, abscesos, lengua entre otros. (28) (29) (30)

La microbiota periodontal presenta: *Agregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia* y *Treponema denticola* además del *Fusobacterium*. (28)

Estas bacterias tienen como característica su alta capacidad de adaptación y evolución en distintos medios y condiciones fisicoquímicas ya que la cavidad oral es un ambiente adecuado para el desarrollo de microorganismo, debido a su humedad, temperatura, ph y nutrientes. (31)

La colonización de *Actinomyces sp.* y *Streptococcus sp.* *coagregados con F. nucleatum* y otras especies, generan irritación de los tejidos y paralelamente van a incrementar las especies de *Porphyromonas*, *Prevotella* y de otros microorganismos asociados con la devastación del tejido, confirmando de esta forma el escenario para el desarrollo de la patología periodontal. (32)

## **2.2.2 FUSOBACTERIUM NUCLEATUM:**

### **2.2.2.1. Descripción:**

Es una especie gram negativa que se establece en el biofilm de la placa bacteriana, son bacilos largos fusiformes, inmóviles, no esporulados, y principalmente no fermentativos. La producción de ácido butírico como primordial producto metabólico posibilita distinguir *Fusobacterium de Prevotella, Porphyromonas y Bacteroides*. (33).

Todas estas bacterias han sido vinculadas con la enfermedad periodontal sobre todo el *Fusobacterium nucleatum*, hasta ahora se han descrito cinco subespecies de esta especie bacteriana: *F. nucleatum nucleatum*, *F. nucleatum polymorphum*, *F. nucleatum fusiforme*, *F. nucleatum vincentii* y *F. nucleatum animalis*. Su cápsula y la presencia de adhesina FadA (considerada el principal factor de virulencia de importancia en *F. nucleatum*) es su potencial factor de virulencia en la multiplicación e invasión de microorganismos, son los factores de enlace de mayor potencial que causan la enfermedad periodontal (34).

Su genoma presenta aproximadamente  $2.4 \times 10^6$  pares de bases (pb). *Fusobacterium n.* es un huésped muy conocido en la microbiota orofaríngea en humanos, y es un agudo patógeno en las enfermedades periodontales. Es también el que más probabilidades tiene de causar infecciones extraorales como perocarditis, osteomielitis, cáncer colorectal. *F. nucleatum* ha demostrado ser altamente invasivo y su actividad es comparable con la del *P. gingivalis*. (35)

Del *Fusobacterium nucleatum* se conoce que tiene el potencial de ser un patógeno periodontal por medio de la utilización de la producción de metabolitos tóxicos. Dichos elementos tóxicos poseen la función de asesinar o detener la proliferación de las células cercanas clásicos del periodonto (los fibroblastos). Por consiguiente, puede penetrar en el epitelio gingival, y permanecen presentes a niveles altos en la placa vinculada con periodontitis. (35)

## **2.2.5 PORPHYROMONA GINGIVALIS**

### **2.2.5.1 Descripción:**

Considerada como bacteria periodontal, habitan en el área subgingival y su colonización causa una alteración en los tejidos de soporte debido a que se generan diferentes componentes de virulencia, y a una disbiosis entre el sistema inmune y la actitud inflamatoria en el huésped. Se encuentra en el género *Bacteroides*, anaerobio, gram negativo y sin esporas. Es un bacilo corto o cocobacilo, donde sus medidas son de 0.5- 0.8µm x 1 - 3.5µm. (36)

Posee una doble pared celular, donde la externa tiene endotoxinas (lipopolisacáridos) incorporadas, tiene cápsula, no esporulado, sin flagelos, pero rico en fimbrias, superficialmente tiene algunas vesículas quienes en su interior tienen dentro enzimas, fundamental para su acción virulenta, además, hay otro tipo de enzimas que tienen la posibilidad de reducir los compuestos proteicos. (11) (37)

Tiene la facultad de adherirse primordialmente por sus fimbrias peritricas tipo Ib, al igual como por sus vesículas de membrana, hemaglutininas, cápsula, las cuales propician la colonización del surco gingival. Tiene la capacidad de eludir las defensas del huésped, degradar distintas proteínas, por lo tanto, aumentar el proceso inflamatorio, realizando crónico el proceso periodontal. (11)

## **2.2.5 CINNAMOMUN ZEYLANICUM**

### **2.2.5.1. Descripción general de la planta:**

La canela es una sabrosa especie que se utiliza para dar sabor y aroma. Tiene origen en la India, sin embargo, sus propiedades van un poco más allá, ya que esta planta tiene una gran cantidad de propiedades medicinales. Su clasificación taxonómica de la canela, se obtiene a partir de la corteza de diferentes árboles de hojas perenne de la familia Lauraceae. El árbol de canela puede llegar a

medir de 10 a 15m de altura, sus hojas son de forma ovalada y puntiaguda de 5 a 15 cm de largo por 5 a 10cm de ancho color verde brillante en el haz. En su estado silvestre, pero se poda en arboles más pequeños y densos para facilitar su cultivo. (38)

#### **2.2.5.2 Cultivo:**

En el momento de la cosecha se separa la corteza de las hojas y aquello de la rama que no se utiliza, y se dejan secar los rollos de canela al sol. En los mercados de abastos la encontramos como corteza del árbol que es previamente secada y enrollada para obtener su apariencia tradicional. (38)

#### **2.2.5.3 Clasificación taxonómica:**

Ubicación taxonómica de la canela (38).

CATEGORÍA TAXONÓMICA	DESCRIPCIÓN
Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliophyta
Subclase:	Laurales
Familia:	Lauraceae
Género:	Cinnamomum
Especie:	Cinnamomum zeylanicum

#### **2.2.5.4 Descripción geográfica:**

La canela es nativa de Sri Lanka, además fue cultivada por el hombre en la India y en otras áreas geográficas incluida todo el Sur de Asia, parece que esta especie se metió a América en el siglo XVIII. (38)

#### **2.2.5.5 Composición Química:**

Su aroma es debido al aceite esencial de la corteza de canela compone el 0.5- 2.5% de su composición y entre sus principales

componentes se encuentra el aldehído aromático como cinamaldehído (60-80%), esterés aromáticos como benzoato de benzilo (1%), fenoles como el eugenol (2-10%). (38)

#### **2.2.5.6 Uso medicinal:**

Su uso medicinal es conocido por su potente capacidad antioxidante y antiinflamatoria. El poder antioxidante mejora las digestiones, ayuda a prevenir los resfriados y posee propiedades analgésicas. (38)

### **2.2.5 CLORHEXIDINA**

Este compuesto es una base profunda dicatiónica a pH mayor a 3,5 con 2 cargas positivas en cada extremo del puente de hexametileno, es esta naturaleza dicatiónica la que la hace drásticamente interactiva con los aniones, importante para su efectividad, estabilidad, efectos colaterales locales y complejidad para formularla en productos. (16)

#### **2.2.5.1 Historia:**

La clorhexidina ha sido realizada en la década de los 40 por Imperial Chemical Industries en Inglaterra en un análisis contra la malaria.

El estudio in vivo que permitió conocer a la clorhexidina en la periodoncia se llevó a cabo por Løe y Schiott en 1970, donde se enseñó que un enjuague de 60 segundos 2 veces al día con una solución de clorhexidina al 0,2% en ausencia de cepillado regular, inhibía la formación de placa por lo tanto la formación de gingivitis. (16)

#### **2.2.5.2 Mecanismo de acción:**

Su unión es más fuerte a la membrana celular de la bacteria, en concentraciones mínimas logra la inhibición de las bacterias y como

resultado un efecto bacteriostático, en concentraciones elevadas conlleva a la precipitación del citoplasma en la bacteria y por consiguiente muerte celular, efecto bactericida. (16)

### **2.2.5.3 Farmacodinamia**

Con pH entre 5,0 y 8,0 es activa ante bacterias Gram positivas y negativas. La acción inhibitoria se da cuando la clorhexidina está unida al área de las piezas dentarias. La molécula se adhiere al área por un catión, dejándolos libres para interactuar con las cepas bacterianas que intentan colonizar el área. (16)

## **2.2.6 ANTIBIOGRAMA**

Tiene como objetivo determinar la susceptibilidad de una especie bacteriana, hongo o virus, frente a un antibiótico. Es de importancia conocer estos hallazgos ya que determinaran la eficacia del medicamento logrando detener el crecimiento de la bacteria y obtener como resultado un factor predictivo de la eficacia clínica. (44)

### **2.2.6.1 Concentración mínima inhibitoria (CMI):**

Es la concentración mínima de antimicrobiano que inhibe el crecimiento bacteriano y la capacidad del antimicrobiano para inhibir el crecimiento de las bacterias. (39)

### **2.2.6.2 Concentración mínima bactericida (CMB):**

Es la concentración mínima de antimicrobiano capaz de matar un 99.9% de la población bacteriana inicial. Refleja la posible actividad bactericida del antimicrobiano. (39)

### **2.2.6.3 Prueba de Kirby Bauer:**

El método de difusión de discos es empleado para determinar la sensibilidad de una bacteria frente a un antibiótico o quimioterápico. Sobre la superficie de una placa que contiene medio de cultivo, se siembra una cantidad de bacterias para obtener una cepa bacteriana. Posteriormente se colocan discos de sensibilidad con las diferentes concentraciones del antibiótico. Se lleva a incubación durante 24 horas aproximadamente a 37°C. Luego se miden los halos de inhibición de desarrollo en milímetros (mm). Los resultados se expresan como sumamente sensible (inhibición in vitro por una concentración de un antimicrobiano con alta probabilidad con el éxito terapéutico), intermedio (inhibición in vitro por una concentración de un antimicrobiano con un efecto terapéutico incierto), resistente (inhibición in vitro por una concentración de un antimicrobiano con una alta probabilidad con un fracaso terapéutico).

(42)

## CAPÍTULO III

### HIPÓTESIS, VARIABLES Y DEFINICIONES OPERACIONALES

#### 3.1 HIPÓTESIS

**H0:** El extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) no posee efecto antibacteriano in vitro sobre el *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 y *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277.

**H1:** El extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) posee efecto antibacteriano in vitro sobre el *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 y *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277.

### 3.2 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Indicador	Tipo	Escala	Valor y Categoría
Dependiente Efecto antibacteriano	Diámetro de los halos de inhibición	Cuantitativa	Ordinal	mm
	CMI (Concentración mínima inhibitoria) CMB (Concentración mínima bactericida)	Cuantitativa	Ordinal	CMI: mg/mL CMB: UFC
Independiente Agente antibacteriano	Extracto etanólico Cinnamomum zeylanicum	Cuantitativa	Razón/mm	Dilución al 25% Dilución al 50% Dilución al 75% Dilución al 100%
	Clorhexidina (control)	Cuantitativa	Razón/mm	Clorhexidina al 0.12%
Cepas bacterianas	- <i>Fusobacterium nucleatum</i> - <i>Porphyromona gingivalis</i>	Cuantitativa	Razón/mm	Fn (1) Pg (2)

## CAPÍTULO IV

### METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

#### 4.1 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

##### 4.1.1 Diseño

El diseño de la investigación es experimental, porque se utilizó técnicas de cultivo in vitro inoculadas con *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 y *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277 a los cuales se les aplicó discos embebidos con extracto etanólico de canela en distintas concentraciones para determinar el efecto antimicrobiano.

##### 4.1.2 Tipo de investigación

- **Experimental:** Porque se determinó de manera in vitro el efecto del extracto etanólico de *Cinnamomum zeylanicum* a diferentes concentraciones sobre *Fusobacterium nucleatum* y *Porphyromona gingivalis*.
- **Prospectiva:** Porque los datos obtenidos fueron de primera fuente ya que se registraron a partir de observaciones a medida que ocurren los hechos en la investigación.
- **Transversal:** Porque la medición de los resultados se realizó en un mismo tiempo y una sola vez.
- **Analítica:** Porque se evaluaron los resultados registrados para conocer el efecto antibacteriano del extracto estudiado sobre las cepas bacterianas.

## 4.2 ÁMBITO DE ESTUDIO

El estudio de investigación se efectuó en el laboratorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, desarrollado en el año 2022 en la ciudad de Tacna.

## 4.3 MUESTRA Y UNIDAD DE ESTUDIO

El estudio se realizó utilizando diferentes volúmenes de extracto etanólico de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) en el cual se analizó su efecto antibacteriano sobre el *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 y *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277.

### 4.3.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Cepas de *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586.
- Cepas de *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277.
- Corteza de *cinnamomum zeylanicum* (canela) sin hongos y bacterias.

### 4.3.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Cepas de *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 que no se han sembrado adecuadamente.
- Cepas de *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277 que no se han sembrado adecuadamente.
- Corteza de *cinnamomum zeylanicum* (canela) con hongos y bacterias.

#### **4.4. INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

Se empleó la técnica de observación directa, en la cual los datos obtenidos fueron registrados en una ficha de elaboración propia para realizar la respectiva investigación. (ANEXO 2,3,4,5)

#### **4.5 MATERIALES DE LABORATORIO**

##### **4.5.1 Equipos:**

- ✓ Autoclave vertical
- ✓ Horno de calor seco
- ✓ Incubadora
- ✓ Refrigeradora
- ✓ Equipo de vórtex
- ✓ Balanza analítica
- ✓ Micropipetas de 10  $\mu$ l
- ✓ Micropipetas de 100  $\mu$ l
- ✓ Micropipetas de 1000  $\mu$ l
- ✓ Vernier digital

##### **4.5.2 Materiales de vidrio:**

- ✓ Balón de vidrio de 250 y 500 mL
- ✓ Embudos de vidrio
- ✓ Vasos de precipitación de 200 ml
- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Probeta de 10 ml
- ✓ Bagueta
- ✓ Jarra de anaerobiosis
- ✓ Tubo 0.5 de McFarland
- ✓ Asa Drigalsky

#### 4.5.3 Medios de cultivo:

- ✓ Agar Müeller Hinton (MH)
- ✓ Caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI)
- ✓ Agar nutritivo (AN)

#### 4.5.4 Bacterias:

- ✓ Bacteria *Fusobacterium Nucleatum*
- ✓ Bacteria *Porphyromona gingivalis*

#### 4.5.6 Reactivos y otros:

- ✓ Alcohol etílico de 70°
- ✓ Ron de quemar
- ✓ Alcohol yodado
- ✓ Agua destilada
- ✓ Puntas para micropipeta
- ✓ Discos para sensibilidad antimicrobiana
- ✓ Cámara semi – profesional
- ✓ Mechero
- ✓ Asa bacteriológica (Asa de Kolle)
- ✓ Asa de siembra Drigalski
- ✓ Gradilla
- ✓ Pinzas
- ✓ Rollo de papel Kraft
- ✓ Papel filtro Albet N° 40
- ✓ Mascarilla
- ✓ Guantes quirúrgicos
- ✓ Algodón
- ✓ Discos de sensibilidad Oxoid

- ✓ Pavilo
- ✓ Papel aluminio
- ✓ Marcadores
- ✓ Calculadora
- ✓ Damajuana de vidrio
- ✓ Corcho
- ✓ Guardapolvo
- ✓ Mandilón quirúrgico
- ✓ Clorhexidina 0.12%
- ✓ Jeringa hipodérmica 15 ml
- ✓ Cocina eléctrica
- ✓ Encendedor
- ✓ Licuadora semi-industrial
- ✓ Mango de bisturí N°3
- ✓ Hoja de bisturí N°10
- ✓ Damajuana de vidrio
- ✓ Corcho para botella
- ✓ Papel aluminio
- ✓ Lentes de protección

## CAPÍTULO V

### PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS DE DATOS

#### 5.1 RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

##### 5.1.1 Recolección del *cinnamomum zeylanicum*

- **Recolección:** La corteza del árbol de canela fue obtenida del principal mercado de abastos de la ciudad de Tacna (Mdo. Grau). Se compró 1 kg de corteza del árbol de *cinnamomum zeylanicum* (canela) para el estudio, en horas de la mañana.

Se solicitó la taxonomía de la corteza de la canela adquirida a la Especialista en Taxonomía Dra. Rosario Zegarra, ex profesora principal de Botánica de la Facultad de Ciencias Agropecuarias Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann (ANEXO 1).

- **Preparación de la muestra recolectada:** La muestra recolectada se almacenó dentro de una bolsa de papel kraft en un ambiente cerrado para conservar su integridad. Al día siguiente se trasladó la muestra al laboratorio, para separar aquellas impurezas presentes en la muestra.
- **Pulverización:** Se trozó la muestra en pequeños fragmentos, de tal manera que se pueda facilitar su pulverización con el uso de la licuadora semi – industrial (Marca Oster), la cual logró estandarizar las partículas.

## **5.2. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE CINNAMOMUM ZEYLANICUM (CANELA)**

Para la obtención del extracto etanólico del cinnamomum zeylanicum y concentraciones se siguió el procedimiento descrito por Vidal (40): El extracto etanólico es obtenido por el método de maceración, luego de pesar la muestra recolectada y se obtuvo 900 gr, la cual fue colocada en un frasco de vidrio (damajuana) color verde, previamente lavada con alcohol de 70° para su desinfección. Luego se vertió 4 Lt. de alcohol de 70° en el mismo y se tapó la corona del recipiente de vidrio con un corcho desinfectado para evitar el ingreso de sustancias extrañas, finalmente el frasco fu envuelto con papel aluminio, dejándolo por un tiempo de maceración de 45 días, agitándolo cada 8 horas al día.

Posteriormente se realizó el bifiltrado, empleando papel filtro Albet N°40, siendo adaptado a la superficie interna del embudo de vidrio. En una probeta de vidrio se recolectó 2 500 ml de extracto etanólico que se vertió en 6 placas Petri grandes para ser llevado a desecar a la estufa (Drawer Drier modelo IC106D) a 45°C por 24 horas para separar el alcohol del principio activo.

Finalizado el tiempo se raspó el extracto etanólico ya solidificado de las placas Petri, usando una hoja de bisturí N°10 y mango de bisturí N°3, obteniendo un polvillo cristalizado (principio activo) para ser guardado en un recipiente de vidrio hasta su uso.

### **5.2.1 OBTENCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO ETANÓLICO:**

El polvillo cristalizado fue pesado en una balanza analítica. Se logró obtener 8.4024 g que fueron llevados a un tubo de ensayo para

agregar 15 ml de agua destilada y determinar el 100% del extracto etanólico.

Para obtener las concentraciones se distribuyó la mezcla en 4 tubos de ensayo de vidrio:

<b>Concentración al 100%</b>	2 ml de extracto etanólico puro
<b>Concentración al 75%</b>	1.5ml de extracto etanólico + 0.5 ml agua destilada.
<b>Concentración al 50%</b>	1ml de extracto etanólico + 1 ml de agua destilada
<b>Concentración al 25%</b>	0.5ml de extracto etanólico + 1.5 ml de agua destilada

Se homogenizó la solución en un vortexer marca VWR por 15 segundos. Los tubos fueron rotulados y almacenados hasta su uso.

### 5.3. OBTENCIÓN DE LAS CEPAS BACTERIANAS

Las cepas microbianas de *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 y *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277 fueron obtenidas de un distribuidor en Lima (GenLab).

#### 5.3.1 ACTIVACIÓN DE LAS CEPAS BACTERIANAS

A partir de un medio de cultivo con Agar base sangre (ABS) se tomó colonias de *Fusobacterium nucleatum* (*Fn*) y *Porphyromona gingivalis* (*Pg*) para sembrarlas por estría en viales con Agar nutritivo (AN) a 37°C por 24 horas, para su

posterior resembrado, por lo tanto, las bacterias se encontrarán en actividad metabólica.

Se preparó Caldo Infusión cerebro corazón (caldo BHI) de la marca Liofilchem, para dos tubos de ensayo siguiendo las instrucciones del fabricante.

$$\begin{array}{r} 37 \text{ g} \text{ --- } 1000 \text{ ml} \\ \times \text{ --- } 30 \text{ ml} \\ \hline 1.11 \text{ g} \text{ --- } 30 \text{ ml} \end{array}$$

Se siguió el procedimiento realizado por Vidal (40), para la preparación del caldo BHI: Sobre un pedazo de papel aluminio se pesó 1,11g, en una balanza analítica para luego mezclar la sustancia con agua destilada en un matraz de Erlenmeyer de 30 ml, se llevó a hervir utilizando una cocina eléctrica hasta obtener una apariencia cristalina y para evitar el ingreso de microorganismos en la mezcla se cerró la boca del matraz con una torunda de algodón. Una vez empaquetado se esterilizó en autoclave vertical a 121 °C con una presión de 15 PSI (libras por pulgada cuadrada) por 15 minutos. Transcurridos los 15 minutos se esperó a que enfríe a 45° C. Finalmente se vierte el contenido en los tubos de ensayo.

Siguiendo el protocolo descrito por Mendo Rubio 1995 (41), para la siembra por suspensión a caldo BHI a partir del vial con AN: Se flameó el asa de Kolle para su esterilización por calor al rojo vivo, se tomó el vial que tenía colonias de microorganismos y se procedió a retirar la torunda de algodón para flamear la boca del vial; luego se tomó con el asa estéril una asada de la colonia, la boca del vial fue flameada nuevamente y se tapó con una torunda de algodón. La torunda de algodón del tubo con caldo BHI fue retirada, para flamear

la boca del tubo y se colocó en contacto y se realizó la siembra por suspensión con movimientos pendulares. La boca del tubo fue flameada nuevamente y se tapó con una torunda de algodón.

Para otorgar una zona aséptica durante la siembra es necesario estar cerca de la llama de un mechero alcohol aproximadamente entre 15- 20cm del mechero.

Los tubos de ensayo ocupados estuvieron bajo condiciones de anaerobiosis total a 37°C por 24 horas.

Luego se realizó la siembra por estría, las bacterias del tubo de ensayo fueron llevadas hacia los viales que contienen Agar nutritivo a 37°C por 24 horas bajo anaerobiosis total, siguiendo el protocolo por Mendo Rubio, 1995 (41): Se tomó el asa de Kolle y se esterilizó al rojo vivo, luego se retiró la torunda de algodón del tubo de ensayo para flamear la parte superior del tubo, posteriormente se sumergió el asa estéril en caldo BHI y al retirarlo se observó una asada. Se flameó nuevamente la boca del tubo de ensayo para luego ser tapado con una torunda de algodón, se tomó el vial y se realizó la siembra por estría con movimientos en zigzag. Finalmente se flameó la boca del vial y se tapó con una torunda de algodón y se volvió a esterilizar el asa de Kolle al rojo vivo.

Al día siguiente a partir de los viales con agar nutritivo, se transportó las bacterias a caldo BHI por 2-3 horas siguiendo el protocolo descrito por Mendo Rubio 1995 (41) anteriormente mencionado, bajo anaerobiosis total y compararlo con el tubo 0.5 en la escala de McFarland ( $1.5 \times 10^8$  UFB/ml). Para

otorgar una zona aséptica durante la siembra es necesario estar cerca de la llama de un mechero alcohol aproximadamente entre 15- 20cm del mechero.

#### **5.4 PREPARACIÓN DE LOS DISCOS DE SENSIBILIDAD**

Los discos estandarizados de la marca Oxoid fueron obtenidos del distribuidor Medi.Lab. S.R.L.

Se siguió el procedimiento realizado por Vidal (40), para desnaturalizar el antibiótico Imipenem que contenían los discos e impregnar el extracto etanólico en diferentes concentraciones: Fueron colocados en un vaso Beaker de 100 ml con agua destilada y llevados a la autoclave vertical a 121°C con una presión de 15 PSI durante 15 minutos para su esterilización a calor húmedo. Pasados los 15 minutos, se procede a retirar el agua y distribuir correctamente los discos de sensibilidad húmedos en las paredes del vaso Beaker para ser llevado hacia la estufa a 180°C por 30 minutos para la esterilización por calor seco.

#### **5.5 DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD ANTIBACTERIANA POR EL MÉTODO DE KIRBY BAUER**

Se utilizó el método de difusión de disco de Kirby Bauer (43), para determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico

##### **5.5.1 PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS:**

Se preparó Agar Mueller Hinton (MHA) de la marca Millipore para 20 placas Petri, de las cuales se emplearon 16 placas Petri para las concentraciones y 4 placas Petri para los controles

positivo y negativo. Se preparó MHA siguiendo las instrucciones del fabricante.

$$\begin{array}{r} 34 \text{ g} \text{ --- } 1000 \text{ ml} \\ \times \text{ --- } 300 \text{ ml} \\ \hline 10.2 \text{ g} \text{ --- } 300 \text{ ml} \end{array}$$

Sobre un pedazo de papel aluminio en una balanza analítica, se pesó 10,2 g MHA y se realizó el proceso de preparación y esterilización anteriormente mencionado por Vidal (40). Se esperó a que enfríe a una temperatura aproximada de 45° C, para luego ser vertido en 20 placas Petri previamente esterilizadas y se esperó hasta que el medio solidifique.

Se comparó el tubo inoculado con el del tubo 0.5 en la escala de McFarland ( $1.5 \times 10^8$  UFB/ml), al observar turbidez se siguió con el procedimiento. Se realizó la siembra por diseminación hacia las placas con medio MHA, siguiendo el protocolo descrito por Mendo Rubio 1995 (41): Se abrió y flameó la placa Petri correspondiente, luego con una micropipeta de 100µl- 1000µl se procedió a extraer de cada tubo de ensayo 100µl de caldo BHI inoculado con cepa pura de *Fusobacterium nucleatum* y *Porphyromona gingivalis*, luego se sumergió la parte activa de un asa Drigalsky en alcohol de 70° y se pasó por la llama del mechero logrando así su esterilización y se procedió a distribuir el inóculo por toda la superficie del medio. Se realizó el mismo procedimiento en 20 placas Petri.

Finalmente se distribuyeron de la siguiente manera los discos de sensibilidad sobre el medio MHA de las 20 placas siguiendo el procedimiento realizado por Vidal (40):

- *Fusobacterium nucleatum*, se utilizaron 10 placas en total, 2 placas por concentración experimental (25%, 50%, 75%, 100%) y 2 placas para el grupo control positivo y negativo. Se impregnó 30µl de extracto etanólico en cada uno de los 32 discos de sensibilidad, a su concentración correspondiente. 01 disco para el control positivo impregnado con 30 µl de Clorhexidina al 0.12% y 1 disco para el control negativo sin sustancia.
- *Porphyromona Gingivalis*, se utilizaron 10 placas en total, 2 placas por concentración experimental (25%, 50%, 75%, 100%) y 2 placas para el grupo control positivo y negativo. Se impregnó 30µl de extracto etanólico en cada uno de los 32 discos de sensibilidad, a su concentración correspondiente. 01 disco para el control positivo impregnado con 30 µl de Clorhexidina al 0.12% y 1 disco para el control negativo sin sustancia.

Luego se empaquetaron las placas Petri, y fueron llevadas a incubación en anaerobiosis total a una temperatura de 37°C por 24 horas. La siembra fue realizada cerca de la llama de un mechero con alcohol aproximadamente entre 15- 20cm del mechero para otorgar una zona aséptica.

## 5.6 LECTURA

Transcurrido el tiempo de incubación se observó y midió los halos de inhibición en milímetros con un vernier digital.

El diámetro de inhibición en esta zona es directamente proporcional a

la actividad antibacteriana del Extracto etanólico de *cinnanomum zeylanicum* y clorhexidina al 0.12% sobre los microorganismos estudiados.

Se tomó como referencia las pautas por Duraffourd y Lapraz (43), según los halos de crecimiento:

- ✓ Sensibilidad Nula (-): menor a 8 mm.
- ✓ Sensible (+): entre 8 a 14 mm.
- ✓ Muy sensible (++) : entre 14 a 20 mm.
- ✓ Sumamente sensible (+++): mayor a 20 mm. (43)

Lo resultados observados fueron registrados en la ficha de datos. (ANEXO 2 Y 3)

## **5.7 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI)**

A partir de los cultivos jóvenes en viales con AN con *Fusobacterium Nucleatum* y *Porphyromona gingivalis*, cepas con principios activos metabólicos, se realizó la siembra de las colonias por suspensión, siguiendo el protocolo indicado por Mendo Rubio 1995 a dos tubos de ensayo que contenían caldo BHI respectivamente (41).

Luego se llevó a incubar por anaerobiosis a 37°C por 2 horas. Durante ese tiempo, se preparó caldo BHI de la marca Liofilchem, para 22 tubos de ensayo de 13mm x 150 mm, siguiendo las instrucciones del autor:

$$\begin{array}{r} 37 \text{ g} \quad \text{---} \quad 1000 \text{ ml} \\ \times \quad \text{---} \quad 66 \text{ ml} \\ \hline 2.442\text{g} \quad \longrightarrow \quad 66 \text{ ml} \end{array}$$

En una balanza analítica se pesó 2,442 g de caldo BHI sobre un pedazo de papel aluminio, siguiendo el procedimiento ya descrito por Vidal. (40)

La solución madre de caldo BHI fue vertida hacia los tubos de ensayo según lo calculado (Anexo 4 y 5).

Se utilizaron micropipetas de 1µl – 10µl, 10µl – 100µl y 100µl – 1000 µl según requiera el caso. Seguidamente los tubos rotulados fueron colocados en recipientes grandes para ser llevados a la autoclave vertical a 121° con una presión de 15 PSI por 15 minutos para su esterilización por calor húmedo. Se mezcló 8,4024g en 15 ml de agua destilada y se homogenizó la sustancia con ayuda de un vortexer para obtener la solución madre del extracto etanólico y a partir de ella se va a distribuir el volumen final del principio activo en cada tubo suspendido en caldo BHI según lo planificado. Transcurridas las 2 horas de incubación se comparó la turbidez con el tubo 0.5 en la escala de McFarland ( $1.5 \times 10^8$  UFB/ml) al ser semejantes se vertió de la siguiente manera: (Anexo 4 y 5)

- 11 tubos de ensayo para *Fusobacterium nucleatum*: en 10 de ellos vertió 300µl de bacterias, con una micropipeta de 100µl - 1000µl. Seguidamente se vertió el volumen final del principio activo y caldo BHI en cada tubo según lo planificado, con micropipetas de 1µl – 10µl, 10µl – 100µl según lo requiera. (Anexo 4)
- 11 tubos de ensayo para *Porphyromona gingivalis*: en 10 de ellos vertió 300µl de bacterias, con una micropipeta de 100µl - 1000µl. Seguidamente se vertió el volumen final del principio activo y caldo BHI en cada tubo según lo planificado, con

micropipetas de 1µl – 10µl, 10µl – 100µl según lo requiera.  
(Anexo 5)

Finalmente fueron llevados a incubación a 37°C por 24 horas en su respectivo recipiente.

Al día siguiente se realizó la lectura de los resultados, se determinó como CMI al tubo que no presente turbidez y se observe un aspecto cristalino podría no presentar crecimiento bacteriano, dicho tubo para *Fusobacterium nucleatum* es el tubo n° 7 cuya concentración es 29,4084 mg/mL y para *Porphyromona gingivalis* es el n°5 le cuya concentración es 14,7042 mg/mL. (ANEXO 4 Y 5)

## 5.8 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA (CMB)

Se preparó MHA de la marca Millipore para 08 placas Petri, según indicaciones del fabricante:

$$\begin{array}{l} 34 \text{ g} \text{ --- } 1000 \text{ ml} \\ x \text{ --- } 120 \text{ ml} \\ 4.08 \text{ g} \text{ --- } 120 \text{ ml} \end{array}$$

Luego de pesar la cantidad requerida de Agar MH sobre una balanza analítica se realizó el procedimiento anteriormente mencionado por Vidal (40) para su preparación y esterilización. Finalizado el proceso de esterilización se vertió en placas Petri la mezcla y se esperó a que el medio solidifique.

Para *Fusobacterium nucleatum* se tomó cepas bacterianas de los tubos N° 7,8,9 y para *Porphyromona gingivalis* de los tubos N° 5,6,7,8,9. (Anexo 4 y 5)

Seguidamente se realizó la siembra por diseminación siguiendo el protocolo descrito por Mendo Rubio 1995 (40) sobre los medios y luego a incubación durante a 37° C por 24 horas.

Al día siguiente se determinó que la CMB para *Fusobacterium nucleatum* observándose <1 UFC/placa se encuentra en el tubo N°8 cuya concentración es 31,509mg/mL y para *Porphyromona gingivalis* se encuentra en el tubo N°5 cuya concentración es 14,7042mg/mL.

## 5.9 CROMATOGRAFÍA

Es un método muy usado y potente en todas las ramas de la ciencia que permite la separación, identificación y determinación de los componentes químicos en mezclas complejas, permite descomponer una mezcla y analizar sus constituyentes (33).

Se realizó el análisis físico-químico del Extracto etanólico del *Cinnamomum zeylanicum* (canela) con el laboratorio de la Universidad Nacional de San Antonio Abad de Cusco, Facultad de Ciencias de la salud, el “Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría”, en la ciudad de Cuzco, Perú. (ANEXO 6)

## 5.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Lo datos obtenidos se llenaron en fichas luego los resultados fueron llevados a una hoja de cálculo en el programa Microsoft Excel 2019 Windows (Excel 2019, Stanford, California, Estados Unidos, 2018), para su procesamiento. Se utilizó SPSS Statistics para Windows en su versión 27.0, para analizar los datos de forma ordenada desde su inicio. Posteriormente los resultados fueron presentados en cuadros de estadísticos descriptivos, tablas y/o figuras de presentación.

Previamente se determinará si los datos tienen una distribución normal haciendo uso de la prueba de Shapiro-Wilk, para escoger la estadística inferencial.

La prueba estadística inferencial paramétrica que se utilizó fue la Prueba de Varianza (ANOVA), para evidenciar la diferencia entre medias de los grupos estudiados, además se empleó la Prueba Post Hoc de Tukey para comparaciones múltiples.

## CAPÍTULO VI

### RESULTADOS

El extracto etanólico fue llevado al laboratorio de Cromatografía y Espectrometría, de la Universidad Nacional San Antonio de Abad de la ciudad de Cusco, para su análisis de Marcha Fitoquímica y Perfil de compuestos fenólicos (Ensayo fitoquímico), el resultado determinó la presencia de abundantes compuestos fenólicos. (ANEXO 6)

Se determinó el efecto del extracto etanólico de canela sobre *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 y *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277 mediante el método de difusión de disco Kirby Bauer desarrollado en el laboratorio de Microbiología. Mediante los datos registrados se ha podido crear una base de datos y realizar tablas, gráficos y figuras.

## Objetivo específico 1

**TABLA 1. Estadística descriptiva del efecto antibacteriano del extracto etanólico del *Cinnamomum zeylanicum* (canela) a diferentes concentraciones frente a *FUSOBACTERIUM NUCLEATUM* ATCC 25586.**

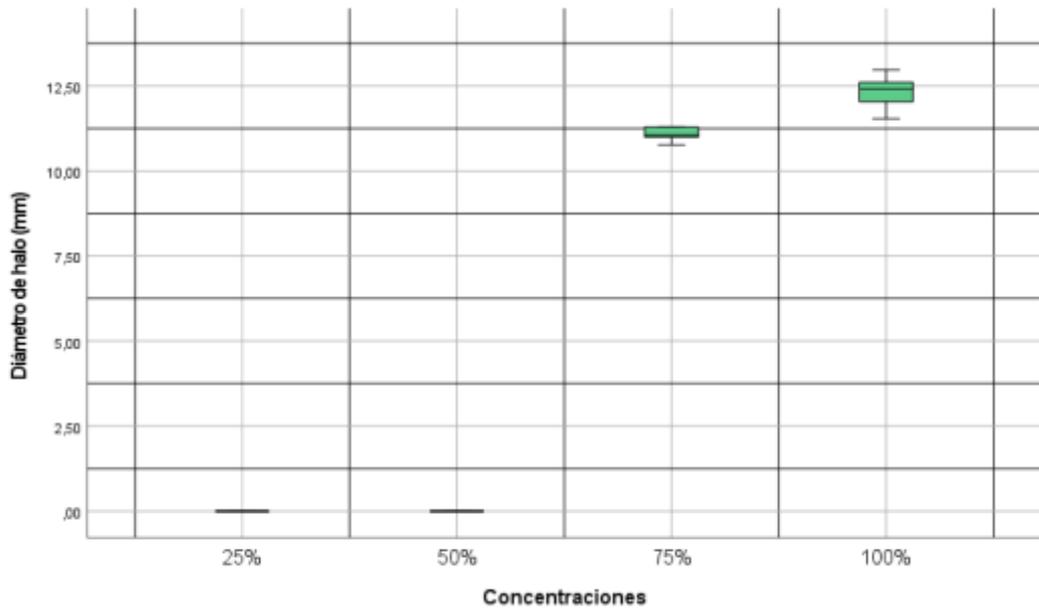
Concentración	N	Rango	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
25%	8	-	*	*	*	-
50%	8	-	*	*	*	-
75%	8	0,52	10,77	11,29	11,0950	0,18593
100%	8	1,43	11,54	12,97	12,3300	0,45776

\* valor menor a 6 mm

## INTERPRETACIÓN:

En la Tabla 1, se aprecia que ha concentraciones superiores del extracto etanólico del *Cinnamomum zeylanicum* (Canela) se presenta halo de inhibición mayor frente a *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586. En cuanto a la concentración de 25% y 50%, tienen un valor menor a 6mm del diámetro de halo de inhibición y para la concentración de 75% y 100%; el menor diámetro de halo de inhibición (media), es 11,0950mm, que corresponde a una concentración 75%, el mayor diámetro de halo de inhibición (media), es 12,3300mm, que corresponde a la concentración 100%.

Pero el dato no fue el suficiente para poder hallar CMI, por lo que se decide ampliar el tubo de la muestra con mayor concentración hasta el 200%. se pudo observar que las concentraciones mayores a 100% presentarían mayores resultados de inhibición.



**FIGURA 1. Diagrama de cajas y bigotes del efecto antibacteriano del extracto etanólico del cinnamomum zeylanicum (canela) a diferentes concentraciones frente a *FUSOBACTERIUM NUCLEATUM* ATCC 25586.**

#### **INTERPRETACIÓN:**

De la Figura 1, se puede apreciar, que la distribución de datos para la concentración de 25% y 50%, es menor a 6mm. La distribución de datos para la concentración al 75% y 100%, presenta una variación mínima (varianza relativamente baja).

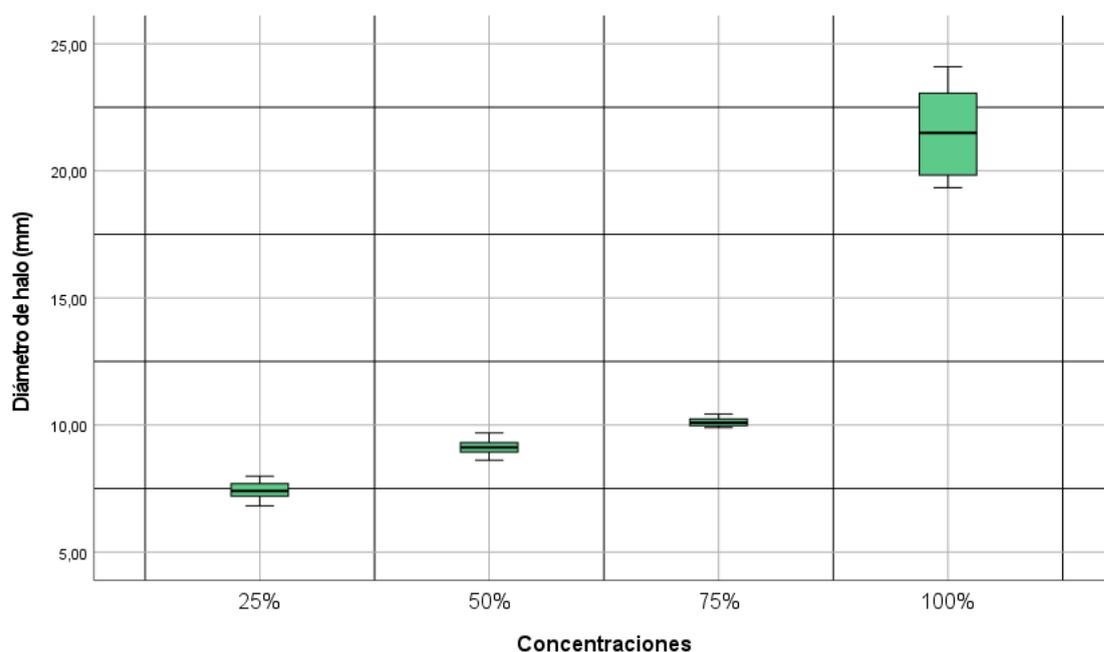
## Objetivo específico 2

**TABLA 2. Resultados de los estadísticos descriptivos del efecto antibacteriano del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) a diferentes concentraciones frente a *PORPHYROMONA GINGIVALIS* ATCC 33277.**

Concentración	N	Rango	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
25%	8	1,17	6,82	7,99	7,4275	0,36931
50%	8	1,07	8,62	9,69	9,1313	0,32913
75%	8	0,53	9,90	10,43	10,1200	0,18071
100%	8	4,76	19,34	24,10	21,5263	1,78935

### INTERPRETACIÓN:

Se observa en la Tabla 2, el resultado de la estadística descriptiva del efecto antibacteriano del extracto etanólico del *Cinnamomum zeylanicum* (Canela) a diferentes concentraciones: 25%, 50%, 75%, 100% sobre *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277. Se puede apreciar, la relación directamente proporcional entre las concentraciones 25%, 50% y 75% y los diámetros de halo 7, 4275mm, 9,1313mm, 10,1200 mm, respectivamente; pero, para la concentración 100%, y el diámetro medio de halo de 21,5263mm, difiere significativamente de las demás concentraciones.



**FIGURA 2: Diagrama de cajas y bigotes del efecto antibacteriano del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) a diferentes concentraciones frente a *PORPHYROMONA GINGIVALIS* ATCC 33277.**

**INTERPRETACIÓN:**

En la Figura 2, se puede apreciar, que, la distribución de datos en mm para la concentración de 25%, 50% y 75%, están muy próximas en sus respectivas medias, es decir, no presenta una variación de datos considerable (varianza baja); en tanto, la concentración 100% presenta una varianza de datos alta (varianza alta).

### Objetivo específico 3

**TABLA 3. Resultados de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico del cinnamomum zeylanicum (canela) frente a *FUSOBACTERIUM NUCLEATUM ATCC 25586*.**

Tubo	Concentración (mg/mL)	BHI(μl)	Turbidez CMI
1	16,8048	2 610,00	+
2	18,9054	2 598,75	+
3	21,006	2 587,50	+
4	23,1066	2 576,25	+
5	25,2072	2 565,00	+
6	27,3078	2 553,75	+
<b>7</b>	<b>29,4084</b>	<b>2 542,50</b>	<b>-</b>
8	31,509	2 531,25	-
9	33,6096	2 520,00	-
10	Control positivo	2 700,00	+
11	Control negativo	3 000,00	-

Positivo (+): Indica presencia de microorganismos (crecimiento bacteriano)

Negativo (-): Indica ausencia de microorganismos

### INTERPRETACIÓN:

De la tabla 3, se puede determinar que a partir del tubo N°7 se identificó soluciones con ausencia de microorganismos o ausencia de crecimiento bacteriano, por lo que, la concentración mínima inhibitoria es 29,4080mg/mL.

**TABLA 4. Resultados de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) frente a *PORPHYROMONA GINGIVALIS* ATCC 33277.**

<b>Tubo</b>	<b>Concentración (mg/mL)</b>	<b>BHI(μl)</b>	<b>Turbidez CMI</b>
1	12,6036	2 632,50	+
2	13,12875	2 629,68	+
3	13,6539	2 626,87	+
4	14,17905	2 624,06	+
<b>5</b>	<b>14,7042</b>	<b>2 621,25</b>	<b>-</b>
6	15,22935	2 618,43	-
7	15,7545	2 615,62	-
8	16,27965	2 612,81	-
9	16,8048	2 610,00	-
10	Control positivo	2 700,00	+
11	Control negativo	3 000,00	-

Positivo (+): Indica presencia de microorganismos (crecimiento bacteriano)

Negativo (-): Indica ausencia de microorganismos

#### **INTERPRETACIÓN:**

De la tabla 4, se puede advertir que a partir del tubo N°5 a más, se precisó soluciones con ausencia de microorganismos o ausencia de crecimiento bacteriano, por ende, la concentración mínima inhibitoria es 14,7042mg/mL.

**TABLA 5. Resultados de la concentración mínima bactericida (CMB) del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) frente a *FUSOBACTERIUM NUCLEATUM* ATCC 25586.**

Placa	Concentración (mg/mL)	UFC
7	29,4084	11
<b>8</b>	<b>31,509</b>	<b>0 (CMB)</b>
9	33,6096	0

**INTERPRETACIÓN:**

De la Tabla 5, luego de tomar los tubos 7,8,9 los cuales no presentan turbidez se puede advertir que la concentración mínima bactericida observándose <1 UFC/placa se encuentra en el tubo N°8 cuya concentración es 31,509mg/mL.

**TABLA 6. Resultados de la concentración mínima bactericida (CMB) del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) frente a *PORPHYROMONA GINGIVALIS* ATCC 33277.**

<b>Placa</b>	<b>Concentración (mg/mL)</b>	<b>UFC</b>
<b>5</b>	<b>14,7042</b>	<b>0 (CMB)</b>
6	15,22935	0
<b>7</b>	15,7545	0

**INTERPRETACIÓN:**

De la Tabla 6, se puede precisar, que los tubos N° 5,6,7 no presentan turbidez se puede determinar que la concentración mínima bactericida observándose <1 UFC/placa se encuentra en el tubo N°5, cuya concentración es 14,7042 mg/mL.

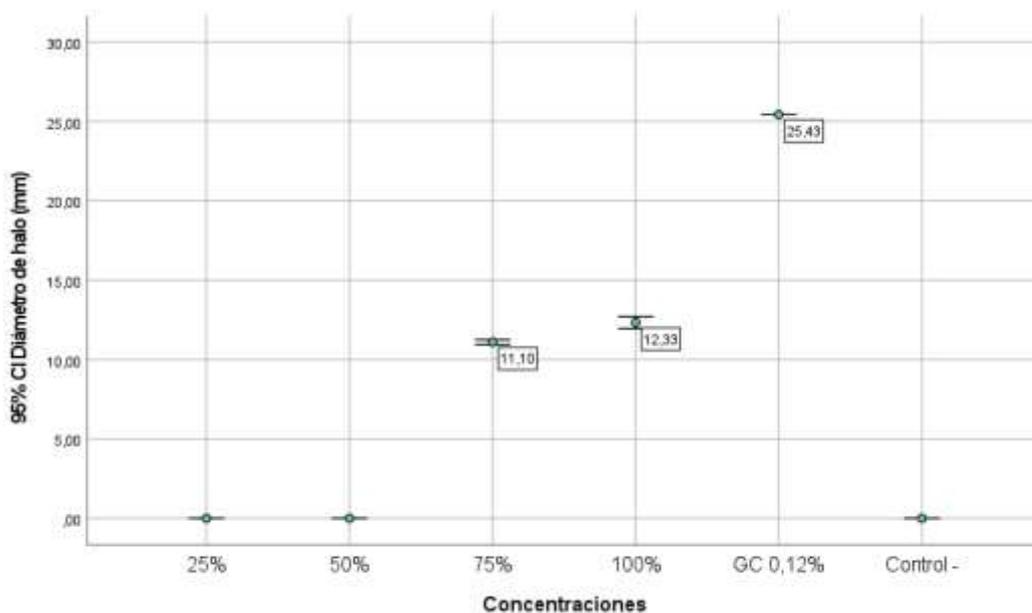
#### Objetivo específico 4

**TABLA 7. Comparación del efecto antibacteriano del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) en diferentes concentraciones con clorhexidina al 0.12% frente a *FUSOBACTERIUM NUCLEATUM* ATCC 25586 Y *PORPHYROMONA GINGIVALIS* ATCC 33277.**

Concentraciones frente a	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% de intervalo de confianza		Mín.	Máx.	
					Límite inferior	Límite superior			
<i>Porphyromona Gingivalis</i> ATCC 33277	25%	8	7,4275	0,36931	0,13057	7,1187	7,7363	6,82	7,99
	50%	8	9,1313	0,32913	0,11637	8,8561	9,4064	8,62	9,69
	75%	8	10,1200	0,18071	0,06389	9,9689	10,2711	9,90	10,43
	100%	8	21,5263	1,78935	0,63263	20,0303	23,0222	19,34	24,10
	CHX 0,12%	8	28,5300	0,00000	0,00000	28,5300	28,5300	28,53	28,53
	Control -	8	0,0000	0,00000	0,00000	0,0000	0,0000	0,00	0,00
<i>Fusobacterium Nucleatum</i> ATCC 25586	25%	8	0,0000	0,00000	0,00000	0,0000	0,0000	0,00	0,00
	50%	8	0,0000	0,00000	0,00000	0,0000	0,0000	0,00	0,00
	75%	8	11,0950	0,18593	0,06574	10,9396	11,2504	10,77	11,29
	100%	8	12,3300	0,45776	0,16184	11,9473	12,7127	11,54	12,97
	CHX 0,12%	8	25,4300	0,00000	0,00000	25,4300	25,4300	25,43	25,43
	Control -	8	0,0000	0,00000	0,00000	0,0000	0,0000	0,00	0,00

#### INTERPRETACIÓN:

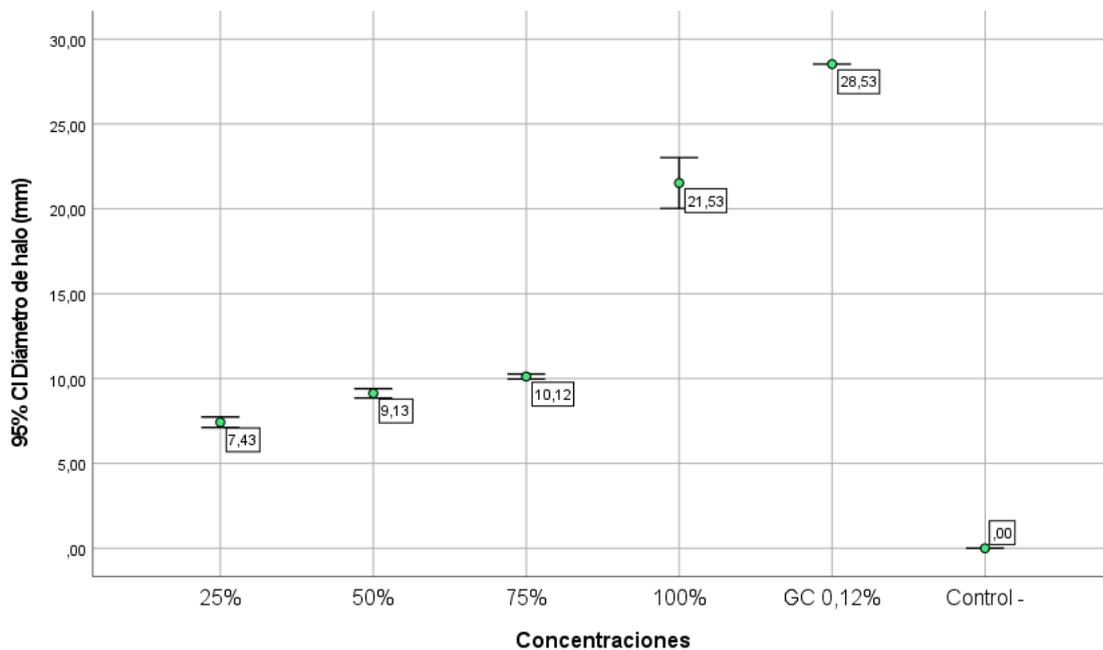
De la Tabla 7, se observa que el efecto antibacteriano del extracto etanólico del *Cinnamomum Zeylanicum* (Canela) frente *Fusobacterium Nucleatum* ATCC 25586 y *Porphyromona Gingivalis* ATCC 33277 tiene un efecto creciente, es decir, el efecto es proporcional a la concentración, también se puede ver que el efecto antibacteriano frente a *Porphyromona Gingivalis* ATCC 33277 es mayor en comparación frente a *Fusobacterium Nucleatum* ATCC 25586, comparado con la Clorhexidina al 0.12% presenta menor efecto antibacteriano.



**FIGURA 3. Intervalos de confianza del efecto antibacteriano del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) en diferentes concentraciones con clorhexidina al 0.12% frente a *FUSOBACTERIUM NUCLEATUM* ATCC 25586.**

**INTERPRETACIÓN:**

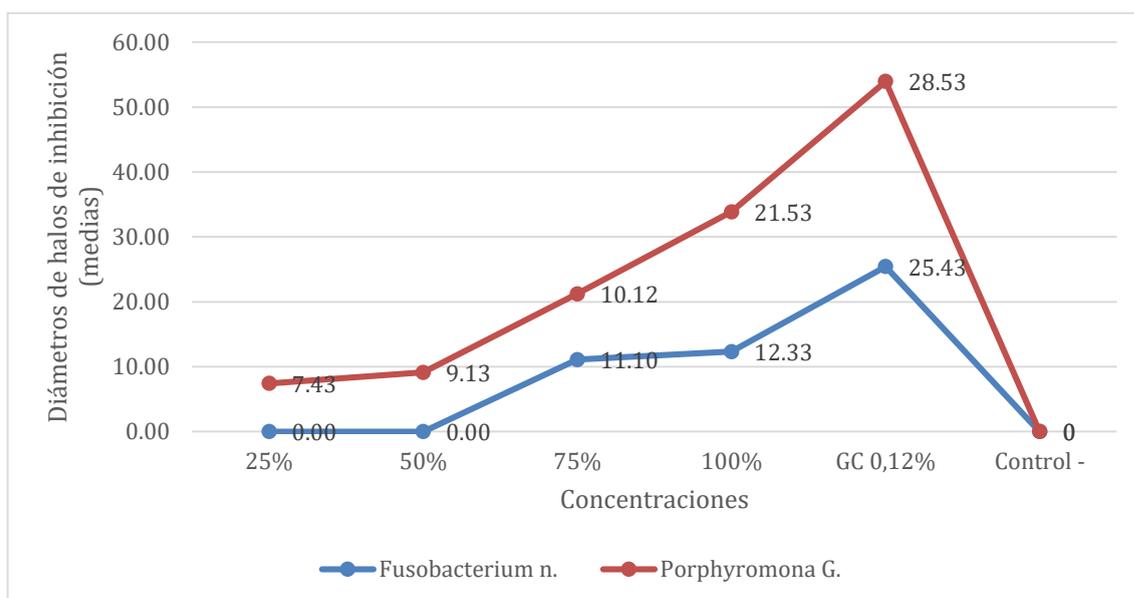
De la Figura 3, se puede apreciar, que al comparar el extracto etanólico, en diferentes concentraciones, y clorhexidina al 0.12% sobre *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, se obtuvo que la concentración al 25%, 50%, 75% y 100% presentan menor efecto antibacteriano que la clorhexidina al 0.12%, todo ello, con un 95% de confianza y 5% de error.



**FIGURA 4. Intervalos de confianza del efecto antibacteriano del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) en diferentes concentraciones con clorhexidina al 0.12% frente a *PORPHYROMONA GINGIVALIS* ATCC 33277.**

#### **INTERPRETACIÓN:**

En la figura 4, se observa que al comparar el efecto antibacteriano del extracto etanólico, a diferentes concentraciones, y Clorhexidina al 0.12% sobre *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277, se determinó que la concentración al 25%, 50%, 75% y 100% tiene menor efecto que la clorhexidina al 0.12%, todo ello, con un 95% de confianza y 5% de error.



**FIGURA 5. Comparación del efecto antibacteriano del extracto etanólico del *Cinnamomum zeylanicum* (canela) en diferentes concentraciones con clorhexidina al 0.12% frente a *FUSOBACTERIUM NUCLEATUM ATCC 25586* Y *PORPHYROMONA GINGIVALIS ATCC 33277*.**

#### **INTERPRETACIÓN:**

De la Figura 5, se puede observar que el extracto etanólico de *Cinnamomum zeylanicum* (Canela) presenta mejores reacciones con la *Porphyromona gingivalis ATCC 33277* y menores reacciones sobre *Fusobacterium nucleatum ATCC 25586*. También se puede apreciar que la Clorhexidina al 0.12% presenta mayor reacción frente a *Porphyromona gingivalis ATCC 33277* y *Fusobacterium nucleatum ATCC 25586*.

## CONTRASTE DE HIPÓTESIS

La comprobación de la hipótesis, se realizó en dos partes:

- La primera parte corresponde, si el extracto etanólico del *Cinnamomum zeylanicum* (Canela) posee efecto antibacteriano in vitro sobre el *Fusobacterium Nucleatum ATCC 25586*.
- La segunda parte corresponde, si el extracto etanólico del *Cinnamomum zeylanicum* (Canela) posee efecto antibacteriano in vitro sobre *Porphyromona gingivalis ATCC 33277*.

En nuestro caso para comprobar la hipótesis, previamente se realizó la prueba de normalidad; en nuestro caso ( $n < 50$ ), lo cual, haremos uso de la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, Tabla 8.

**TABLA 8. Pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk para muestras del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum* (canela) frente a *FUSOBACTERIUM NUCLEATUM ATCC 25586*.**

Concentración	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
25%	*	8	*	*	*	*
50%	*	8	*	*	*	*
75%	0,228	8	,200*	0,882	8	0,197
100%	0,194	8	,200*	0,953	8	0,738

\*Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a Corrección de significación de Lilliefors

**H<sub>0</sub>: Los datos se distribuyen de manera normal.**

**H<sub>1</sub>: Los datos se distribuyen de manera No normal.**

### **INTERPRETACIÓN:**

De la Tabla 8, muestra la significancia para cada variable, la cual es mayor a 0,05; por lo que aceptamos H<sub>0</sub>, los datos se ajustan a una distribución normal. Conforme a lo aceptado debe usarse una prueba Paramétrica. Posteriormente, se elige la prueba paramétrica de análisis de varianza (ANOVA).

Para evidenciar la diferencia de medias entre los grupos estudiados, realizamos la prueba de ANOVA. (Tabla 9).

**TABLA 9. Resultados del análisis de varianza**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<b>Entre grupos</b>	4154,322	5	830,864	84,078	<0,001
<b>Dentro de grupos</b>	494,105	50	9,882		
<b>Total</b>	4648,427	55			

**Ho:** El extracto etanólico del *Cinnamomum zeylanicum* (Canela) no posee efecto antibacteriano frente a *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586.

**Ha:** El extracto etanólico del *Cinnamomum zeylanicum* (Canela) posee efecto antibacteriano frente a *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586.

En la Tabla 9, se observa que el extracto etanólico del *Cinnamomum zeylanicum* (Canela) posee efecto antibacteriano sobre *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 encontrándose una significancia  $p < 0,05$  por tal motivo se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis del investigador (alterna). También, se considera la prueba POST HOC, de Tukey, para comparaciones múltiples, entre los grupos de estudio.

**TABLA 10. Comparaciones múltiples, prueba Post Hoc, de Tukey.**

(I)	(J) Volumen	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
<b>CHX 0,12%</b>	<b>25%</b>	25,43000*	1,57179	<0,001	20,7727	30,0873
	<b>50%</b>	25,43000*	1,57179	<0,001	20,7727	30,0873
	<b>75%</b>	19,88250*	1,36121	<0,001	15,8492	23,9158
	<b>100%</b>	13,10000*	1,57179	<0,001	8,4427	17,7573

\* La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

De la Tabla 10, se observa que los  $p$  - valores son menores a 0,05, por lo tanto, existe diferencia significativa entre los grupos de estudio. Es decir, con respecto a Clorhexidina al 0,12%, el efecto antibacteriano es diferente para cada grupo de estudio.

Para comprobar la segunda parte, se realizó anteriormente la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk. (Tabla 11).

**TABLA 11. Pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk para muestras del extracto etanólico del cinnamomum zeylanicum (canela) frente a *PORPHYROMONA GINGIVALIS* ATCC 33277.**

Concentración	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
25%	0,128	8	,200*	0,988	8	0,990
50%	0,155	8	,200*	0,983	8	0,977
75%	0,229	8	,200*	0,929	8	0,508
100%	0,149	8	,200*	0,939	8	0,605

\* Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

<sup>a</sup> Corrección de significación de Lilliefors

**H<sub>0</sub>: Los datos se distribuyen de manera normal.**

**H<sub>1</sub>: Los datos se distribuyen de manera No normal**

### **INTERPRETACIÓN:**

De la Tabla 11, se puede observar la significancia para cada variable, la cual es mayor a 0,05; por lo tanto, se acepta la hipótesis nula (H<sub>0</sub>: los datos se distribuyen de manera normal).

Por consiguiente, se ha de utilizar una prueba Paramétrica, elegimos la prueba paramétrica de análisis de varianza (ANOVA), para demostrar la diferencia de medias entre los grupos estudiados, los resultados se observan en la Tabla 12.

**TABLA 12. Resultados del análisis de varianza**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<b>Entre grupos</b>	4295,404	5	859,081	1481,537	<0,001
<b>Dentro de grupos</b>	24,354	42	0,580		
<b>Total</b>	4319,758	47			

**Ho:** El extracto etanólico del *Cinnamomum zeylanicum* (Canela) no posee efecto antibacteriano frente a *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277.

**Ha:** El extracto etanólico del *Cinnamomum zeylanicum* (Canela) posee efecto antibacteriano frente a *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277.

En la Tabla 12, se puede ver qué el extracto etanólico del *Cinnamomum zeylanicum* (Canela) posee efecto antibacteriano frente a *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277, hallando una significancia  $p < 0,05$  por lo tanto se rechaza hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alterna. También, consideramos una prueba POST HOC, de Tukey, para comparaciones múltiples, entre los grupos de estudio.

**TABLA 13. Comparaciones múltiples, Prueba Post Hoc, De Tukey.**

(I)	(J)	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
	Volumen				Límite inferior	Límite superior
<b>CHX 0,12%</b>	<b>25%</b>	21,10250*	0,38074	<0,001	19,9659	22,2391
	<b>50%</b>	19,39875*	0,38074	<0,001	18,2621	20,5354
	<b>75%</b>	18,41000*	0,38074	<0,001	17,2734	19,5466
	<b>100%</b>	7,00375*	0,38074	<0,001	5,8671	8,1404

\* La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

En la Tabla 13, se muestra que los  $p$  - valores son menores a 0,05, lo que significa, la existencia de diferencias significativas entre los grupos de estudio. Es decir, el efecto antibacteriano es diferente para cada grupo de estudio con respecto a Clorhexidina al 0,12%.

## DISCUSIÓN

En la población se encuentran con mayor frecuencia a la caries dental y enfermedad periodontal (1). Uno de los factores contribuyentes más importantes para la progresión de estas enfermedades bucodentales, es la biodiversidad y naturaleza compleja de la placa dental ya que forma una barrera protectora contra los agentes antimicrobianos. (5)

La canela es una especie retirada de la corteza del árbol del género *Cinnamomum* (44), que abarca casi 250 especies y en ese grupo está incluido cuatro especies principales: *zeylanicum*, *burmanni*, *saigon* (45).

Los extractos a partir de plantas se caracterizan por la presencia de determinados compuestos de origen natural que tienen propiedades antimicrobianas y antifúngicas capaces de combatir agentes patógenos localizados en la cavidad bucal. (46) . El estudio realizado por Alca (20) evaluó la efectividad del aceite esencial de *cinnamomum zeylanicum* demostrando efecto antifúngico altamente sensible frente a la cepa de *Candida albicans*.

En el presente estudio se obtuvo extracto etanólico de canela en la variedad de *Cinammomum Zeylanicum*, al cual se le realizó el análisis de Marcha Fitoquímica y Perfil de compuestos fenólicos (Ensayo fitoquímico) y se analizó de forma cuantitativa, se halló la presencia de metabolitos secundarios: abundantes compuestos fenólicos y flavonoides, triterpenos y esteroides, y taninos. Se podría decir que estos metabolitos secundarios condicionan la actividad antimicrobiana por lo tanto las propiedades de inhibición bacteriana se atribuyen a estos componentes químicos. (47). Su mecanismo de acción detiene el desarrollo de la pared celular y activa las enzimas para destruir la integridad de esa pared, altera la síntesis de proteínas además el metabolismo de los ácidos nucleicos entre otros. (48)

Este estudio tiene como objetivo determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico del *Cinnamomum Zeylanicum* (canela) al 25%, 50%, 75%, 100% sobre el *Fusobacterium nucleatum*, se observaron halos de inhibición de sensibilidad < 6 mm, < 6 mm, 11,095 mm; 12,33 mm respectivamente, ejerciendo un efecto antibacteriano sobre ésta cepa bacteriana. García (18) concluye que su aceite esencial de *Cinnamomum Zeylanicum* posee efecto antimicrobiano frente a *Fusobacterium nucleatum* en todas sus concentraciones. Estudio que obtuvo resultados similares al presentado por Machaca (21) observó que su aceite esencial a base canela presenta actividad antibacteriana en todas sus concentraciones sobre *Fusobacterium nucleatum*. Coincide con el estudio realizado por Torres (19), observó capacidad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo en todas sus concentraciones frente a *Fusobacterium nucleatum*. Concluyendo que existe un mayor efecto antibacteriano a medida que aumenta la concentración, es decir los diámetros de los halos iban en aumento.

En cuanto al efecto antibacteriano del extracto etanólico del *Cinnamomum Zeylanicum* (canela) al 25%, 50%, 75%, 100% sobre *Porphyromona gingivalis*, el resultado fue de 7,4275mm; 9,1312mm; 10,12mm; 21,52625mm respectivamente. Concluyendo que el extracto etanólico presenta efecto en todas sus concentraciones. Parecido al estudio de Yépez (16) los resultados demostraron actividad antibacteriana de un extracto de *cinnamomum verum* frente a *Porphyromona gingivalis* en todas sus concentraciones.

Mientras que Alca (20) realizó un aceite esencial a base *cinnamomum zeylanicum* al 70% y 100% sobre cepa de *Candida albicans* siendo altamente, también se evidenció que a mayores concentraciones se obtuvo mejor efecto antifúngico. En conclusión, se indica efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de canela sobre *Fusobacterium nucleatum* y *Porphyromona gingivalis*.

En el presente trabajo de investigación se halló el CMI del extracto etanólico de *Cinnamomum zeylanicum* frente a *Fusobacterium nucleatum*, registrando una

concentración mínima inhibitoria al 175% de 29.4084 mg/mL. El resultado difiere con García (18) su estudio reveló el efecto mínimo inhibitorio en la menor concentración de su aceite esencial a base de *cinnamomum zeylanicum*. En cuanto al CMB del extracto etanólico de *cinnamomum zeylanicum* frente a *Fusobacterium nucleatum* fue 31,509 mg/mL con lo que eliminó al 99.9% de la cepa bacteriana. Encontrándose una gran diferencia con García (18) siendo su efecto bactericida a la concentración del 25%.

En relación a la concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida del extracto etanólico de *Cinnamomum zeylanicum* frente a *Porphyromona gingivalis* fue a 14,7042 mg/mL.

Observando los resultados del efecto del extracto etanólico del *Cinnamomum zeylanicum* frente a *Fusobacterium nucleatum* se comparó con la clorhexidina al 0.12%, observando que presenta una mejor capacidad antibacteriana que el extracto etanólico de canela. El estudio difiere con el de Machaca (21) evidenciando que a las 24 horas la lectura de los halos de inhibición es muy similar con clorhexidina al 0.12%.

Al comparar el efecto del extracto etanólico del *Cinnamomum zeylanicum* con clorhexidina al 0.12% sobre *Porphyromona gingivalis*, se concluyó que el potencial de la clorhexidina al 0.12% es superior. Los resultados difieren con el estudio realizado por Yépez (16) concluyendo que el extracto metanólico de *cinnamomum verum* tiene efecto antibacteriano semejante a la clorhexidina al 0.12%.

Para la adquisición de las bacterias se tuvo que realizar la compra en un laboratorio certificado y esperar para visualizarlas. En cuanto a la obtención del extracto etanólico del *cinnamomum zeylanicum*, la siembra sobre medios de cultivo con el objetivo de determinar la actividad inhibitoria se requiere contar con diversos materiales, sustancias, y conocimiento previo acerca del manejo de materiales de

laboratorio para facilitar el aprendizaje, sin embargo, se adquirió habilidad, destreza, conocimiento acerca de los métodos y medios de cultivo para microbiología.

## CONCLUSIONES

1. Se determinó la existencia de efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Cinnamomum zeylanicum* (Canela) frente a *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 y *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277, demostrando un efecto antibacteriano positivo por el método de difusión de discos Kirby Bauer. (p<0,05)
2. Se determinó el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Cinnamomum zeylanicum* (Canela) frente a *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 con valores de 11,010 ±0,155 mm de halos de inhibición para una concentración del 75% y 12,33±0,383 mm de halos de inhibición para una concentración del 100%; para las concentraciones de 25% y 50%, los diámetros de halos de inhibición fueron menores a 6 mm. (p<0,05)
3. Se determinó el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Cinnamomum zeylanicum* (Canela) frente a *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277, se determinó la actividad antibacteriana con valores de 7,4275±0,309 mm de halos de inhibición para una concentración del 25%, 9,1313±0,2752 mm para una concentración del 50%, 10,12±0,151 mm para una concentración del 75% y 21,5263±1,496 mm para una concentración del 100% (p<0,05).
4. La concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico del *Cinnamomum zeylanicum* (Canela) sobre el *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 fue de 29,4084 mg/mL y para *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277 fue de 14,7042 mg/mL. La concentración mínima bactericida (CMB) del extracto etanólico del *Cinnamomum zeylanicum* (Canela) sobre el *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 fue de 31,509 mg/mL y para *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277 fue de 14,704 mg/mL.

5. Se comparó el efecto antibacteriano del extracto etanólico del *Cinnamomum zeylanicum* (Canela) con clorhexidina al 0.12% sobre el *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, se obtuvo valores por debajo del efecto de la clorhexidina al 0,12%, el valor medio máximo de diámetro de halo de inhibición fue de 12,33 mm para una concentración del 100% contra 25,43 mm de la clorhexidina al 0,12%. Al comparar el efecto antibacteriano del extracto etanólico del *Cinnamomum zeylanicum* (Canela) con clorhexidina al 0.12% sobre el *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277, se obtuvo, para concentraciones de 25%, 50% y 75%, valores por debajo del efecto de la clorhexidina al 0,12%, el valor medio máximo de diámetro de halo de inhibición fue de 21,5263 mm para una concentración del 100% contra 28,53 mm de la clorhexidina al 0,12%. La Clorhexidina al 0.12% tiene mayor efecto antibacteriano que el extracto etanólico del *Cinnamomum zeylanicum* (Canela) sobre *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 y *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277. ( $p < 0,05$ )

## **RECOMENDACIONES**

1. Se recomienda promover la investigación sobre la base de extracto etanólico de canela a fin de obtener resultados “in vivo “en especies animales.
2. Se recomienda seguir con la línea de investigación en base a otras especies naturales para conocer sus componentes e incorporarlos en formulaciones magistrales en odontología.
3. Se recomienda promover el producto de extracto etanólico de canela para poder utilizarlo en un futuro como posible tratamiento en odontología.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Anguiano L. y col. “Las enfermedades periodontales y su relación con enfermedades sistémicas”, Rev Mex Periodontol 2015; VI (2): 77-87.  
Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/periodontologia/mp-2015/mp152e.pdf>
2. Löe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. J Periodontol. 1965; 36: 177- 87.
3. Mosquera T. Veloz T. “Eficacia in vitro de un colutorio elaborado con aceite esencia de la hoja de ishpingo ocotea quixos”. Revista de Ciencia de la vida 2011. 13(1), 31-41.
4. Organización Mundial de la Salud. [internet]. OMS, 2022. [citada 18 de noviembre 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news/item/18-11-2022-who-highlights-oral-health-neglect-affecting-nearly-half-of-the-world-s-population>
5. Hurtado C. y col. “Bacterias asociadas a enfermedades periodontales”. Oral. 2016;17(54):1374-1378. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/oral/ora-2016/ora1654f.pdf>.
6. Berezow A., Darveau R.. Microbial shift and periodontitis. Periodontol 200. 2011; 55(1): 36-47.
7. Teles R, y col. Lessons learned and underlearned in periodontal microbiology. Periodontol 2000.2013; 62: 95-162.
8. Unlu M. y col., “Composition, antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity of essential oil from Cinnamomum zeylanicum Blume (Lauraceae)”. Food Chem Toxicol. 2010 Nov;48(11):3274-80.
9. Ministerio de Salud [ internet] MINSA, 2019 [ citado el 8 de Julio 2019] Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/noticias/45475-el-90-4-de-los-peruanos-tiene-caries-dental>

10. Bascones A, Figuero E. “Enfermedades periodontales como infecciones bacterianas “Madrid; Publicado en Med. Oral Patol Oral Cirugía Bucal 2004; 92-107.
11. Ramos D, Moromi H, Martínez E, Porphyromonas gingivalis: patógeno predominante en la periodontitis crónica, Perú, 2011, Odontol. Sanmarquina; 14(1): 34-38. Disponible en:  
[https://www.researchgate.net/publication/307142979\\_Porphyrromonas\\_gingivalispatogeno\\_predominante\\_en\\_la\\_periodontitis\\_cronica](https://www.researchgate.net/publication/307142979_Porphyrromonas_gingivalispatogeno_predominante_en_la_periodontitis_cronica)
12. De Joao V, Avila M, “Aggregatibacter actinomycetemcomitans y Fusobacterium nucleatum en biopelículas subgingivales de pacientes brasileños con y sin enfermedad periodontal: comparación de dos métodos de detección”, Odontol. Sanmarquina; 21(4): 268-277. Brasil, 2018.
13. Corrales R., Reyes P., Piña G., “Plantas medicinales de interés estomatológico”, Rev. 16 de Abril, 53(256):79-98. Cuba 2014.  
Disponible en:  
<https://www.medigraphic.com/pdfs/abril/abr-2014/abr14256h.pdf>
14. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD, Medicina Tradicional, 13 de septiembre de 2019.
15. Bascones, A., Morante S., “Antisépticos orales: Revisión de la literatura y perspectiva actual”. Avances en Periodoncia e Implantología Oral. 2006.18(1), 21-29. Recuperado en 20 de octubre de 2023, de  
[http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1699-65852006000100004&lng=es&tlng=es.](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-65852006000100004&lng=es&tlng=es)
16. Yépez V., “Efecto inhibitorio del extracto de cinnamomum verum (canela) y el extracto acuoso de illicium verum (anís estrellado) en cepas de Porphyromonas gingivalis. estudio in vitro” Universidad Central del Ecuador. 2019.  
Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/18573>

17. Meléndez F. y cols. “Inhibición de Porphyromona gingivalis por Cinnamomum verum E Illicium verum”. México. Vol. 1, No.1 (2016) 280-285.
18. García, K. “efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de cinnamomum zeylanicum (canela) sobre el Fusobacterium nucleatum ATCC 25586.” Tesis. Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de postgrado. 2016.
19. Torres M, J. “Comparación del efecto de un extracto etanólico de propóleo a dos concentraciones y del paramonoclorofenol alcanforado frente Enterococcus Faecalis y Fusobacterium Nucleatum”. Perú 2019. Rev Cient Odontol (Lima). 2019; 7 (1): 53-65.  
 Disponible en:  
[https://www.researchgate.net/publication/334158755\\_Comparacion\\_del\\_efecto\\_antibacteriano\\_de\\_un\\_extracto\\_etanolico\\_de\\_propoleo\\_a\\_dos\\_concentraciones\\_y\\_del\\_paramonoclorofenol\\_alcanforado\\_frente\\_a\\_Enterococcus\\_faecalis\\_y\\_Fusobacterium\\_nucleatum](https://www.researchgate.net/publication/334158755_Comparacion_del_efecto_antibacteriano_de_un_extracto_etanolico_de_propoleo_a_dos_concentraciones_y_del_paramonoclorofenol_alcanforado_frente_a_Enterococcus_faecalis_y_Fusobacterium_nucleatum)
20. Alca Y., “Efectividad antifúngica in vitro individual y su asociación de los aceites esenciales origanum vulgare (orégano) y cinnamomoum zeylanicum (canela) a diferentes concentraciones sobre Candida albicans, Cusco-2018”. Visión Odontológica, 6(1), 44–50.  
 Disponible en:  
<https://revistas.uandina.edu.pe:443/index.php/VisionOdontologica/articloe/view/161>
21. Machaca S., “Estudio in vitro comparativo de la acción antibacteriana del aceite esencial Cinnamomum verum (canela) y clorhexidina 0.12% en cultivos de Fusobacterium nucleatum”. Tesis. Universidad Andina Néstor Cáceres Velásquez. Juliaca 2019.  
 Disponible en:  
[http://www.repositorio.uancv.edu.pe/bitstream/handle/UANCV/8310/T036\\_73302992\\_T\\_.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://www.repositorio.uancv.edu.pe/bitstream/handle/UANCV/8310/T036_73302992_T_.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

22. Guerrero S, Santamaría M, ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Melissa officinalis* L. (TORONJIL) Y *Piper aduncum* (Matico) Frente A *Fusobacterium nucleatum*, EN LOS LABORATORIOS FORENSE LAMBAYEQUE Y MICROCLIN TRUJILLO, 2021”, Huancayo. Tesis. Universidad de Roosevelt.
23. Carvajal P, Enfermedades periodontales como un problema de salud pública: el desafío del nivel primario de atención en salud. *Revista clínica de periodoncia, implantología y rehabilitación oral*, 9(2), 177-183. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1016/j.piro.2016.07.001>
24. Parameters of Care. American Academy of Periodontology. Parameters of care. *J Periodontol* 2000;71 (suppl 5):847-883.
25. Herrera D y cols, La nueva clasificación de las enfermedades periodontales y periimplantarias". *Revista científica de la sociedad española de periodoncia. Periodoncia Clínica*, 2018, v. 2018 n. 11, p. 94-110.
26. Sheiham A. Oral health, general health and quality of life. *Bulletin of the World Health Organization*. 2005.
27. Vargas A, Yañez B, Clasificación de enfermedades y condiciones periodontales y periimplantarias 2018. Primera parte, *Revista Odontológica Mexicana Órgano Oficial De La Facultad De Odontología UNAM*, 25(1). Disponible en: <https://doi.org/10.22201/fo.1870199xp.2021.25.1.82268>
28. Alvear F, Vélez M, Botero L, Factores de riesgo para las enfermedades periodontales. *Revista Facultad De Odontología Universidad De Antioquia*, 22(1), 109–116. Disponible en: <https://doi.org/10.17533/udea.rfo.2680>
29. Lindhe J, Is Periodontitis a unique disease entity. *J Clin Periodontol* 2000;27 Suppl 1:11.
30. Marsh P, Martin M. *Oral Microbiology*. Fourth edition. ed. England: Wright; 2000.

31. Socransky S, Haffajee A. Microbial mechanisms in the pathogenesis of destructive periodontal disease. *J. Periodontol. Re.* 1991; 26(195).
32. Kinder, S.A. and Holt, S.C., Characterization of coaggregation between *Bacteroides gingivalis* T22 and *Fusobacterium nucleatum* T18, *Infect. Immun.*, 57, 3425, 1989.
33. Koneman E, Allen S, Janda W, Schreckenberger P, Winn W. *Diagnóstico Microbiológico*. 5th ed. Buenos Aires, Argentina: Editorial Medica Panamericana; 57 1999.
34. Bolstad A, Jense H, Bakken V. Taxonomy, Biology, and Periodontal Aspects of *Fusobacterium nucleatum*. *Clinical Microbiology Review*. 1996; p. 55-71.
35. Rodríguez E, Rodríguez M, Tratamiento antibiótico de la infección odontogénica. *Inf Ter Sistema Nacional de Salud*. 2009; 33(3): p. 67-79.
36. Delucchi G, Keller H, Hurrell J, *Cinnamomum glanduliferum* y *C. verum* (Lauraceae) naturalizadas en la Argentina. *Bonplandia*.; Vol 25(1): 33 - 41. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/307167808\\_Delucchi\\_G\\_H\\_A\\_Keller\\_J\\_A\\_Hurrell\\_2016\\_Cinnamomum\\_glanduliferum\\_y\\_C\\_verum\\_Lauraceae\\_naturalizadas\\_en\\_la\\_Argentina\\_Bonplandia\\_251\\_33-41](https://www.researchgate.net/publication/307167808_Delucchi_G_H_A_Keller_J_A_Hurrell_2016_Cinnamomum_glanduliferum_y_C_verum_Lauraceae_naturalizadas_en_la_Argentina_Bonplandia_251_33-41)
37. Holt SC, Ebersole JL. *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*: the 'red complex', a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontol* 2000. 2005;38(1):72-122.
38. Flores C, EFECTO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Cinnamomum zeylanicum* *Helicobacter pylori* AREQUIPA-2018.
39. Horna G, y col, Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida de ciprofloxacina en bacterias uropatógenas aisladas en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. *Revista Médica Herediana*. 2005. 16(1), 39-45. Recuperado en 19 de octubre de 2023, de [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1018-130X2005000100007&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2005000100007&lng=es&tlng=es).

40. Vidal J, Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico obtenido de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) comparado con discos de sensibilidad de nistatina, sobre un cultivo de *Candida albicans* obtenido en pacientes con diagnóstico de estomatitis subprótesis que acuden al centro de salud ciudad nueva de Tacna en el año 2020. Tesis. Perú 2021.
41. Mendo Rubio M. Lecciones de Microbiología y Medios de Cultivo. 4th ed. Lima: Ediciones Laborales S.R.L.;1995.200 p.
42. Cavalieri S.J., Rankin I.D., Harbeck R.J., Sautter R.L., McCarter Y.S., Sharp S.E., Ortez J.H., Spiegel C.A. Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. 2005.
43. Durffourd C, Hervicourt LD, Lapraz JC. Cuadernos de fitoterapia clínica. 1st ed. Barcelona: Masson; 1987.
44. Tulini F,y cols. Development of solid lipid microparticles loaded with a proanthocyanidin-rich cinnamon extract (*Cinnamomum zeylanicum*): Potential for increasing antioxidant content in functional foods for diabetic population. *Food Res Int.* 2016; 85:10–8.
45. Shawky E., Selim DA. Rapid Authentication and Quality Evaluation of *Cinnamomum verum* Powder Using Near-Infrared Spectroscopy and Multivariate Analyses. *Planta Med.* 2018;84(18):1380–7.
46. Moromi H, Martinez E, Donald P. Antibacterianos naturales orales: Estudios en la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. *Odontol Sanmarquina.* 2009; 12(1): 25-8.
47. Neira A, Ramirez M, Sánchez N, Estudio fitoquímico y actividad antibacterial de *Psidium guineense* Sw (choba) frente a *Streptococcus mutans*, agente causal de caries dentales. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 10(3-4) Recuperado en 03 de noviembre de 2023, de Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962005000300008&Ing=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962005000300008&Ing=es&tlng=es)
48. Ordaz G, D´Armas H, Yáñez D, Hernández J, Camacho A. Metabolitos secundarios, letalidad y actividad antimicrobiana de los extractos de tres

corales y tres moluscos marinos de Sucre, Venezuela. Rev. biol. trop  
[Internet]. 2010 June [cited 2023 Nov 02] ; 58( 2 ): 677-688.

Disponible

en:

[http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-77442010000200012&lng=en](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442010000200012&lng=en)

## **ANEXOS**

## ANEXO 1 ANALISIS TAXONÓMICO

### Ubicación taxonómica de la especie Canela

Reino : Plantae

División : Magnoliophyta

Clase : Magnoliopsida

Orden : Laurales

Familia : Lauraceae

Género : Cinnamomum

Especie : Cinnamomum zeylanicum Breyn

Nombre común : Canela

### Descripción botánica de la especie:

Es una especie es un árbol muy ramificado. Las hojas son simples alternas, un tanto coriáceas, de color verde oscuro, aromáticas. La lámina de la hoja es elíptica u ovada, mide de 5 a 15 cm. de largo por 5 a 10 cm. de ancho, de margen entero, ápice acuminado, base estrecha, curvinervias.

Inflorescencia: Flores reunidas en panículas terminales, brevemente pedunculadas.

Flores: Actinomorfas, hermafroditas, con el perianto constituido por un cáliz amarillento de seis sépalos , dispuestos en dos verticilos. Androceo conformado por nueve estambres perfectos y tres estaminodios. Gineceo con ovario súpero, con un solo óvulo.

Fruto: Baya negra y carnosa , envuelta por el cáliz persistente.

*Asencia E. de la Cruz*

## ANEXO 2: INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

<b>BACTERIA:</b> <i>FUSOBACTERIUM</i> <i>NUCLEATUM</i>	<b>EXTRACTO ETANÓLICO-CINNAMOMUM ZEYLANICUM</b>					<b>GRUPO CONTROL</b>	
	<b>CONCENTRACIÓN</b>	<b>25%</b>	<b>50%</b>	<b>75%</b>	<b>100%</b>	<b>+</b> <b>Clorhexidina</b> <b>al 0.12%</b>	<b>-</b>
	<b>VOLUMEN (µL)</b>	<b>30µL</b>	<b>30µL</b>	<b>30µL</b>	<b>30 µL</b>	<b>30 µL</b>	<b>-</b>
<b>DISO 1</b>	<b>HALOS mm</b>						
<b>DISCO 2</b>	<b>HALOS mm</b>						
<b>DISCO 3</b>	<b>HALOS mm</b>						
<b>DISCO 4</b>	<b>HALOS mm</b>						
<b>DISCO 5</b>	<b>HALOS mm</b>						
<b>DISCO 6</b>	<b>HALOS mm</b>						
<b>DISCO 7</b>	<b>HALOS mm</b>						
<b>DISCO 8</b>	<b>HALOS mm</b>						
<b>PROMEDIO FINAL</b>							

BACTERIA: <i>FUSOBACTERIUM</i> <i>NUCLEATUM</i>	EXTRACTO ETANÓLICO-CINNAMOMUM ZEYLANICUM					GRUPO CONTROL	
	CONCENTRACIÓN	25%	50%	75%	100%	+ Clorhexidina al 0.12%	-
	VOLUMEN (μL)	30μL	30μL	30μL	30 μL	30 μL	-
DISCO 1	HALOS mm	< 6	< 6	11,08	12,58	25,43	<6
DISCO 2	HALOS mm	< 6	< 6	11,29	12,24		
DISCO 3	HALOS mm	< 6	< 6	11,05	12,41		
DISCO 4	HALOS mm	< 6	< 6	11	12,43		
DISCO 5	HALOS mm	< 6	< 6	11,29	11,83		
DISCO 6	HALOS mm	< 6	< 6	10,77	11,54		
DISCO 7	HALOS mm	< 6	< 6	10,99	12,97		
DISCO 8	HALOS mm	< 6	< 6	11,29	12,64		
PROMEDIO FINAL		<6mm	<6mm	11,095mm	12,33mm	25,43mm	<6mm

### ANEXO 3: INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

<b>BACTERIA: <i>PORPHYROMONA GINGIVALIS</i></b>	<b>EXTRACTO ETANÓLICO-CINNAMOMUM ZEYLANICUM</b>					<b>GRUPO CONTROL</b>	
	<b>CONCENTRACIÓN</b>	<b>25%</b>	<b>50%</b>	<b>75%</b>	<b>100%</b>	<b>+ Clorhexidina al 0.12%</b>	<b>-</b>
	<b>VOLUMEN (μL)</b>	<b>30μL</b>	<b>30μL</b>	<b>30μL</b>	<b>30 μL</b>	<b>30 μL</b>	<b>-</b>
<b>DISO 1</b>	<b>HALOS mm</b>						
<b>DISCO 2</b>	<b>HALOS mm</b>						
<b>DISCO 3</b>	<b>HALOS mm</b>						
<b>DISCO 4</b>	<b>HALOS mm</b>						-
<b>DISCO 5</b>	<b>HALOS mm</b>						
<b>DISCO 6</b>	<b>HALOS mm</b>						
<b>DISCO 7</b>	<b>HALOS mm</b>						
<b>DISCO 8</b>	<b>HALOS mm</b>						
<b>PROMEDIO FINAL</b>							-

<b>BACTERIA:</b> <i>PORPHYROMONA</i> <i>GINGIVALIS</i>	<b>EXTRACTO ETANÓLICO-CINNAMOMUM ZEYLANICUM</b>					<b>GRUPO CONTROL</b>	
	<b>CONCENTRACIÓN</b>	<b>25%</b>	<b>50%</b>	<b>75%</b>	<b>100%</b>	<b>+</b> <b>Clorhexidina</b> <b>al 0.12%</b>	<b>-</b>
	<b>VOLUMEN (μL)</b>	<b>30μL</b>	<b>30μL</b>	<b>30μL</b>	<b>30 μL</b>	<b>30 μL</b>	<b>-</b>
<b>DISO 1</b>	<b>HALOS mm</b>	7,13	9,05	10,43	21,28	28,53	< 6
<b>DISCO 2</b>	<b>HALOS mm</b>	7,28	9,21	9,99	22,68		
<b>DISCO 3</b>	<b>HALOS mm</b>	7,32	9,08	9,9	24,1		
<b>DISCO 4</b>	<b>HALOS mm</b>	7,49	9,41	9,97	23,43		
<b>DISCO 5</b>	<b>HALOS mm</b>	7,71	9,69	10,18	21,71		
<b>DISCO 6</b>	<b>HALOS mm</b>	7,68	9,16	10,01	19,34		
<b>DISCO 7</b>	<b>HALOS mm</b>	7,99	8,83	10,23	19,49		
<b>DISCO 8</b>	<b>HALOS mm</b>	6,82	8,62	10,25	20,18		
<b>PROMEDIO FINAL</b>		<b>7,4275</b> <b>mm</b>	<b>9,1312</b> <b>mm</b>	<b>10,12</b> <b>mm</b>	<b>21,52625</b> <b>mm</b>	<b>28,53mm</b>	<b>&lt;6mm</b>

ANEXO 4

CUADRO DE CONCENTRACIONES Y VOLUMENES PARA DETERMINAR LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI) Y CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA (CMB)

BACTERIA: <i>FUSOBACTERIUM NUCLEATUM</i>								
TUBOS	CONCENTRACIÓN INICIAL DEL P.A.(mg/mL)	CONCENTRACIÓN DEL E.E.	VOLUMEN INICIAL DEL P.A.(μL)	10% DEL VOLUMEN TOTAL DE BACTERIAS (μL)	CONCENTRACIÓN FINAL DEL P.A. (mg/mL)	VOLUMEN FINAL DEL P.A. (μL)	CALDO BHI (μL)	VOLUMEN TOTAL (μL)
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
C+								
C-								

**BACTERIA: *FUSOBACTERIUM NUCLEATUM***

TUBOS	CONCENTRACIÓN INICIAL DEL P.A.(mg/mL)	CONCENTRACIÓN DEL E.E.	VOLUMEN INICIAL DEL P.A.(μL)	10%DEL VOLUMEN TOTAL DE BACTERIAS (μL)	CONCENTRACIÓN FINAL DEL P.A. (mg/mL)	VOLUMEN FINAL DEL P.A. (μL)	CALDO BHI (μL)	VOLUMEN TOTAL (μL)
<b>1</b>	16,8048	100%	30	300	50,4144	90,0	2 610	3 000
<b>2</b>	18,9054	112,50%	33,75	300	56,7162	101,25	2 598,75	3 000
<b>3</b>	21,006	125%	37,5	300	63,018	112,5	2 587,5	3 000
<b>4</b>	23,1066	137,50%	41,25	300	69,3198	123,75	2 576,25	3 000
<b>5</b>	25,2072	150%	45	300	75,6216	135	2 565	3 000
<b>6</b>	27,3078	162,50%	48,75	300	81,9234	146,25	2 553,75	3 000
<b>7</b>	29,4084	175%	52,5	300	88,2252	157,5	2 542,5	3 000
<b>8</b>	31,509	187,50%	56,25	300	94,527	168,75	2 531,25	3 000
<b>9</b>	33,6096	200%	60	300	100,82	180	2 520	3 000
<b>C+</b>	-	-	-	300	-	-	2 700	3 000
<b>C-</b>	-	-	-	-	-	-	3 000	3 000

**ANEXO 5**

**TABLA DE CONCENTRACIONES Y VOLUMENES PARA DETERMINAR LA CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA (CMI) Y CONCENTRACION MÍNIMA BACTERICIDA (CMB)**

<b>BACTERIA: PORPHYROMONA GINGIVALIS</b>								
<b>TUBOS</b>	<b>CONCENTRACIÓN INICIAL DEL P.A.(mg/mL)</b>	<b>CONCENTRACIÓN DEL E.E.</b>	<b>VOLUMEN INICIAL DEL P.A.(μL)</b>	<b>10% DEL VOLUMEN TOTAL DE BACTERIAS (μL)</b>	<b>CONCENTRACIÓN FINAL DEL P.A. (mg/mL)</b>	<b>VOLUMEN FINAL DEL P.A. (μL)</b>	<b>CALDO BHI (μL)</b>	<b>VOLUMEN TOTAL (μL)</b>
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
C <sup>+</sup>								
C <sup>-</sup>								

**BACTERIA: PORPHYROMONA GINGIVALIS**

TUBOS	CONCENTRACIÓN INICIAL DEL P.A.(mg/mL)	CONCENTRACIÓN DEL E.E. DEL E.E.	VOLUMEN INICIAL DEL P.A.(μL)	10% DEL VOLUMEN TOTAL DE BACTERIAS (μL)	CONCENTRACIÓN FINAL DEL P.A. (mg/mL)	VOLUMEN FINAL DEL P.A. (μL)	CALDO BHI (μL)	VOLUMEN TOTAL (μL)
1	12,6036	75%	22,5	300	37,8108	67,5	2 632,5	3 000
2	13,12875	78,13%	23,4375	300	39,38625	70,3125	2 629,68	3 000
3	13,6539	81,26%	24,375	300	40,9617	73,125	2 626,87	3 000
4	14,17905	84,38%	25,3125	300	42,53715	75,9375	2 624,06	3 000
5	14,7042	87,50%	26,25	300	44,1126	78,75	2 621,25	3 000
6	15,22935	90,63%	27,1875	300	45,68805	81,5625	2 618,43	3 000
7	15,7545	93,75%	28,125	300	47,2635	84,375	2 615,62	3 000
8	16,27965	96,88%	29,0625	300	48,83895	87,1875	2 612,81	3 000
9	16,8048	100%	30	300	50,4144	90	2 610	3 000
C+	-	-	-	300	-	-	2 700	3 000
C-	-	-	-	-	-	-	3 000	3 000

## ANEXO 6 RESULTADOS DE LABORATORIO



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO  
FACULTAD DE CIENCIAS  
LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA – Pabellón de Control de Calidad  
AV. De la Cultura 723 CUSCO-PERU Contacto 97386855

### RESULTADOS

Cusco, 20 de Octubre del 2022

Solicitante : Marili Gonzales Ayala  
Universidad Privada de Tacna  
Tipo de Análisis : Marcha Fitoquímica y Perfil de compuestos Fenolicos  
Método de Análisis : Reacciones a la gota y Cromatografía líquida  
Tipo de Muestras : Denominado "Extracto etanolico de Canela"  
Cantidad de Muestra : 1, tubo falcon con 50mL aprox  
Almacenamiento : 4 °C.

#### Ensayo fitoquímico

Muestra	Compuestos Fenólicos	Flavonoides	Alcaloides	Terpenos y Esteroides	Saponinas	Taninos	Quinonas
Extracto Etanolico de Canela	+++	+++	-	++	-	++	-

Abundante = +++, Poco = ++, Muy Poco = +, Ausente = -

#### Nota:

El ensayo fitoquímico realizado al extracto consistió en reacciones de coloración y/o precipitación, en el que se evaluó la presencia o ausencia de metabolitos secundarios

#### Referencia

Lock de Ugaz O. 1994. "Investigación Fitoquímica Métodos en el estudio en los productos naturales" Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima.



Guillermo Jorge Chequeráiz Pari  
Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
Espectrometría - UNSAAC  
COP - 954



**RESULTADOS**  
Perfil de compuestos Fenólicos



Muestra	Fenólicos Totales mg/ml. de extracto
Extracto Etanólico de Canela	2.97

**Nota:**

Nota: Se ha detectado la presencia de 15 compuestos, la cantidad se determino mediante una curva de calibración con un estándar de Quercetina, la suma total de los compuestos hallados es expresado en equivalente de Quercetina en miligramos por mililitro de extracto

**Condiciones de Análisis por HPLC**

Cromatógrafo: Agilent series 1200  
Software: Chemstation V03.02  
Columna: Zorbax Eclipse XDB C18 4.6d x 250mm, 5um  
Pre Columna: Zorbax Eclipse XDB-C18 4.6d x 12.5 mm x 5um  
Flujo: 0.800 ml/min.  
Solvente A: 85.0 % H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.1%  
Solvente B: 15.0 % MeCN  
Sistema de Análisis: Inicio 15.0% B, a 10 min 50.0% B, a 20 min 80% B, a 25 min 100% B.  
Detección DAD: 285 nm  
Temperatura del Horno: 40.0°C  
Tiempo de Análisis: 25 min.  
Volumen de Inyección: 5.0 µl

**Referencia**

Vrchotová, N & Sera, Bozena & Triska, Jan. (2007). The stilbene and catechin content of the spring sprouts of *Reynoutria* species. *ACTA Chromatographica*, 19.

Cjuno Q., Ligarda K. 2013 Cuantificación de Acido Rosmarínico en Seis Plantas Cusqueñas de la Tribu Methear (Lamiaceae) por HPLC – DAD Tesis UNSAAC.

Ivanescu, B., Vlase, L., Corciova, A. & Lazar, M. I. (2010). HPLC-DAD-MS study of polyphenols from *Artemisia absinthium*, *A. annua*, and *A. vulgaris*. *Chemistry of Natural Compounds*, 46(3): 465-470. <https://doi.org/10.1007/s10600-010-9548-5>



  
Jorge Chiqueroza Pari  
Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
Espectrometría – UNSAAC.  
COP - 814

**ANEXO 7 FOTOGRAFÍAS DE LOS DINSTINTOS PROCEDIMIENTOS REALIZADOS**



FIGURA 01: CORTEZA DEL ÁRBOL DE CINNAMOMUM ZEYLANICUM.  
FIGURA 2: PULVERIZACIÓN DE LA MUESTRA.



FIGURA 03: LLENADO DE LA DAMAJUANA CON ALCOHOL DE 70° PARA LA MACERACIÓN POR 45 DÍAS.



FIGURA 04: BIFILTRADO DEL MACERADO.



FIGURA 04: PROCESO DE DESECADO EN LA ESTUFA A 45° C.

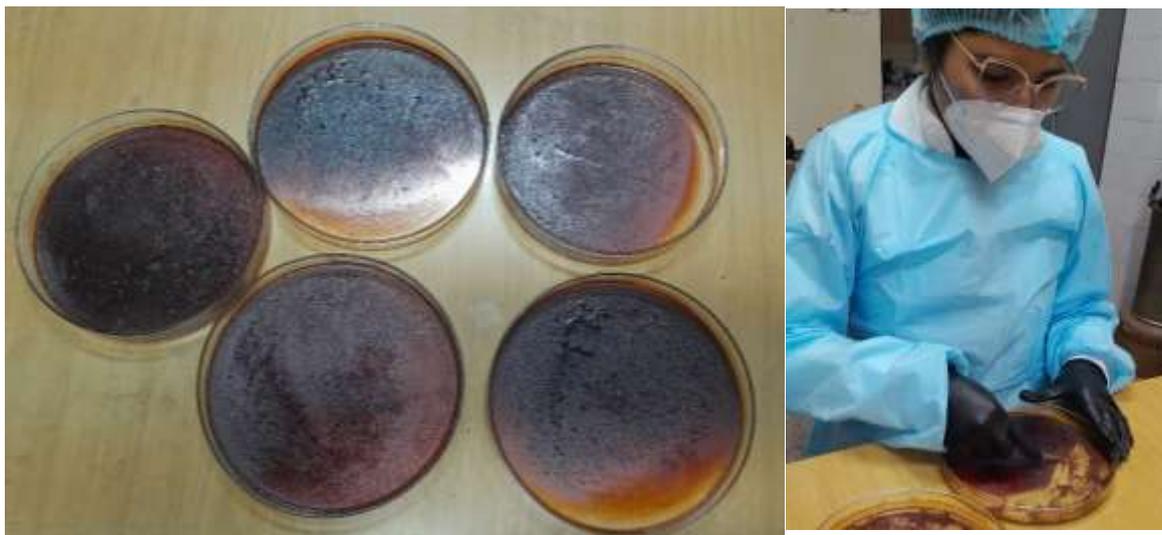


FIGURA 05: OBTENCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES AL 25%,50%,75%, 100% .

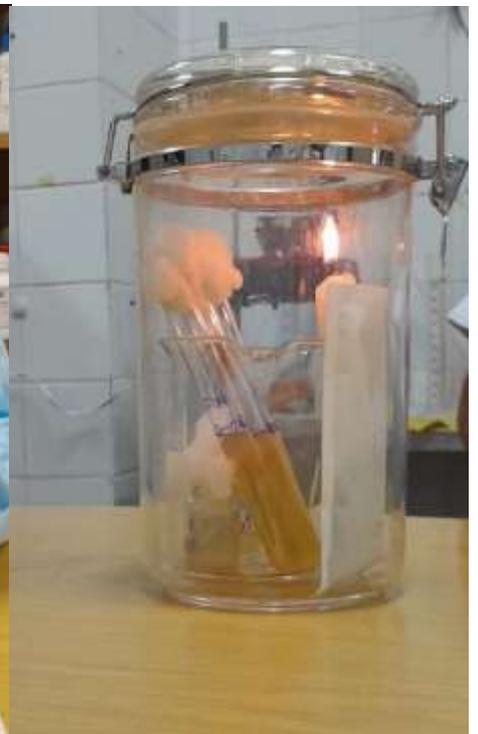


FIGURA 07: ACTIVACIÓN DE LA CEPA *FUSOBACTERIUM NUCLEATUM* ATCC 25586.



FIGURA 08: ACTIVACIÓN DE LA CEPA *PORPHYROMONA GINGIVALIS* ATCC 33277.



FIGURA 09: ESTERILIZACIÓN DE LOS DISCOS DE SENSIBILIDAD EN AUTOCLAVE Y ESTUFA.



FIGURA 10: PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO.



FIGURA 11: DISTRIBUCIÓN DE LOS DISCOS EMBEBIDOS CON EXTRACTO ETANÓLICO SOBRE PLACAS INOCULADAS CON *FUSOBACTERIUM NUCLEATUM* ATCC 25586 Y *PORPHYROMONA GINGIVALIS* ATCC 33277.



FIGURA 12: HALOS REPRESENTATIVOS DE LA SENSIBILIDAD DEL EXTRACTO ETANOLICO DE CINNAMOMUM ZEYLANICUM SOBRE *FUSOBACTERIUM NUCLEATUM* ATCC 25586

FIGURA 13: HALO FORMADO DE LA CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE *FUSOBACTERIUM NUCLEATUM* ATCC 33277



FIGURA 12: HALOS REPRESENTATIVOS DE LA SENSIBILIDAD DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE CINNAMOMUM ZEYLANICUM SOBRE *PORPHYROMONA GINGIVALIS* ATCC 33277

FIGURA 13: HALO FORMADO DE LA CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE *PORPHYROMONA GINGIVALIS* ATCC 33277



FIGURA 16: RESULTADOS DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI) DEL CINNAMOMUM ZEYLANICUM SOBRE *FUSOBACTERIUM NUCLEATUM* ATCC 25586



FIGURA 17: CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA (CMB) DE *FUSOBACTERIUM NUCLEATUM* ATCC 25586



FIGURA 18: RESULTADOS DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI) DEL CINNAMOMUM ZEYLANICUM SOBRE *PORPHYROMONA GINGIVALIS* ATCC 33277

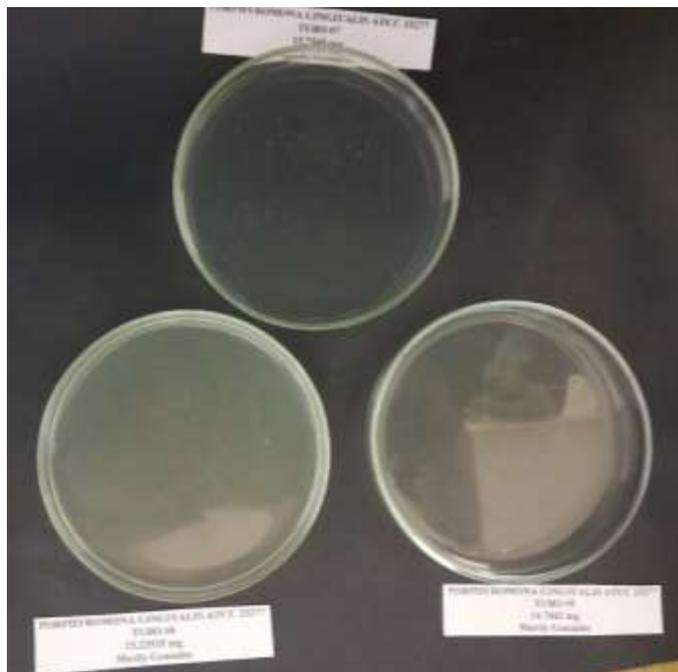


FIGURA 19: CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA (CMB) DE *PORPHYROMONA GINGIVALIS* ATCC 33277