



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA (*in vitro*) DE
TRES ESPECIES VEGETALES DE LA FAMILIA Asteraceae
FRENTE A UNA CEPA ODONTO PATÓGENA**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORA: KATHERINE YAJAIRA CHIMBO VEGA

DIRECTORA: BQF. GISELA ALEXANDRA PILCO BONILLA MSc.

Riobamba – Ecuador

2024

© 2024, Katherine Yajaira Chimbo Vega

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, KATHERINE YAJAIRA CHIMBO VEGA, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados de este son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

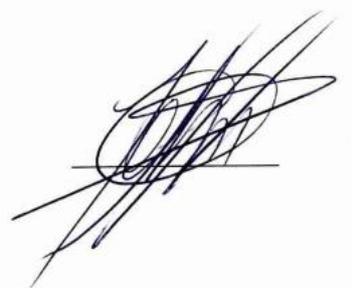
Riobamba, 29 de abril del 2024.



Katherine Yajaira Chimbo Vega
185003062-6

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; tipo: Trabajo Experimental. **ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA (*in vitro*) DE TRES ESPECIES VEGETALES DE LA FAMILIA Asteraceae FRENTE A UNA CEPA ODONTO PATÓGENA**, realizado por la señorita: **KATHERINE YAJAIRA CHIMBO VEGA**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
BQF. Diego Renato Vinueza Tapia PRESIDENTE DEL TRIBUNAL		29-04-2024
BQF. Gisela Alexandra Pilco Bonilla DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		29-04-2024
BQF. John Marcos Quispillo Moyota ASESOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		29-04-2024

DEDICATORIA

A mi familia por ser quienes me han apoyado en cada momento de mi vida, a mis profesores, sus conocimientos, sus valores incluso sus sueños, los llevaré en mi mente y en mi corazón. Nunca se rindan en su lucha interminable por formar verdaderos profesionales. Al BQF. Diego Vinueza por compartir su conocimiento conmigo además de su incansable apoyo durante todo este proceso. Especialmente expreso mis agradecimientos a mi tutora, la BQF. Gisela Pilco, por aceptar este reto desde el primer momento, por sus conocimientos y su paciencia. A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, por darnos la oportunidad de cumplir con nuestros sueños. Mi infinita gratitud con todos quienes hicieron posible que este trabajo culmine de manera exitosa.

Katherine

AGRADECIMIENTO

A Dios en primer lugar, por darme la oportunidad de vivir y regalarme tantas oportunidades, pero sobre todo por darme el reto maravilloso de enamorarme de mi carrera. A mi papá que me brindó su confianza y me enseñó a ir más allá de lo que ven mis ojos. A mi madre que nunca dejó de luchar, que nunca se le acabaron las fuerzas y que me apoyo constantemente, gracias a ambos por levantarse cada mañana sin importar frío ni sueño con tal de darnos todo lo necesario. A mi hermano por ser la luz en mi vida y por inspirarme a ser mejor hermana para él. A la BQF. Gisela Pilco por su apoyo y sus enseñanzas, ha sido un gran ejemplo a seguir durante ese trayendo. Al BQF. Diego Vinueza expresarle mi eterna gratitud por tanto apoyo, su ayuda fue fundamental, sin ella no habría sido posible el culminar esta investigación.

Katherine

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS	xii
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiv
RESUMEN.....	xv
SUMMARY / ABSTRACT	xvi
INTRODUCCIÓN	1

CAPITULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	3
1.1 Planteamiento del problema	3
1.2 Limitaciones y delimitaciones	3
1.2.1 Limitaciones	3
1.2.2 Delimitaciones	3
1.2.2.1 Delimitación Geográfica.....	4
1.2.2.2 Delimitación Temporal.....	4
1.2.2.3 Delimitación de Profundidad.....	4
1.3 Problema general de investigación	4
1.4 Problemas específicos de investigación.....	4
1.5 Objetivos.....	4
1.5.1 Objetivo general	4
1.5.2 Objetivos específicos	5
1.6 Justificación	5
1.6.1 Justificación teórica	5
1.6.2 Justificación metodológica	6
1.6.3 Justificación práctica	6

CAPITULO II

2.	MARCO TEÓRICO	7
2.1	Antecedentes de investigación.....	7
2.1.1	Enfermedades periodontales.....	7
2.1.1.1	Enfermedades periodontales en la población mundial	7
2.1.1.2	Tipos de enfermedades bucodentales.	7
2.1.1.3	Principales modificaciones introducidas a la nueva clasificación de la enfermedad periodontal y condiciones periimplantarias.	8
2.1.1.4	Situación de la salud bucodental en Ecuador.....	9
2.1.2	Bacterias Odonto Patogénicas	9
2.1.3	Antibióticos y actividad antibacteriana.	9
2.1.4	Medicina Herbolaria	10
2.1.5	Aceites esenciales	10
2.1.6	Familia Asteraceae	10
2.1.6.1	Descripción.....	10
2.1.6.2	Características.....	11
2.1.7	Achillea.....	11
2.1.7.1	Características.....	11
2.1.7.2	Taxonomía.....	11
2.1.7.3	Composición Química	12
2.1.7.4	Usos	12
2.1.8	Tanacetum	12
2.1.8.1	Características.....	13
2.1.8.2	Taxonomía.....	13
2.1.8.3	Composición química.....	13
2.1.8.4	Usos	14
2.2	Referencias Teóricas.....	14

2.2.1	Terpenos	14
2.2.2	Sesquiterpenos	14
2.2.3	Albrigi Spring	15
2.2.4	Antibiograma	15
2.2.5	Tamizaje fitoquímico.....	15
2.2.6	Streptococcus mutans ATCC 25175.....	15
2.2.7	Clorhexidina	15

CAPITULO III

3.	MARCO METODOLÓGICO	16
3.1	Enfoque de Investigación	16
3.2	Nivel de Investigación	16
3.2.1	Nivel correlacional	16
3.2.2	Nivel aplicativo.....	16
3.3	Diseño de Investigación.....	16
3.3.1	Según la manipulación o no de la variable independiente.....	16
3.4	Tipo de estudio	17
3.4.1	Investigación bibliográfica	17
3.4.2	Investigación de laboratorio	17
3.5	Población y Planificación, selección y cálculo de tamaño de la muestra	17
3.5.1	Criterios de inclusión.....	17
3.5.2	Criterios de exclusión	17
3.6	Métodos, técnicas e instrumentos de investigación	18
3.6.1	Parámetros de control de calidad del material vegetal	18
3.6.1.1	Determinación del contenido de humedad.....	18
3.6.1.2	Determinación de cenizas totales.....	18
3.6.1.3	Determinación de cenizas solubles en agua.....	19
3.6.1.4	Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico	19

3.6.2	Tamizaje Fitoquímico.....	20
3.6.2.1	Extracción sucesiva del extracto etéreo, etanólico y acuoso	20
3.6.2.2	Identificación de metabolitos secundarios.....	20
3.6.2.3	Ensayo de Sudán.....	21
3.6.2.4	Ensayo de Dragendorff.....	22
3.6.2.5	Ensayo de Mayer	22
3.6.2.6	Ensayo de Wagner	22
3.6.2.7	Ensayo de Baljet	22
3.6.2.8	Ensayo de Liebermann-Burchard	23
3.6.2.9	Ensayo de Catequinas.....	23
3.6.2.10	Ensayo de Resinas	23
3.6.2.11	Ensayo de Fehling	23
3.6.2.12	Ensayo de Cloruro Férrico.....	23
3.6.2.13	Ensayo de Ninhidrina	24
3.6.2.14	Ensayo de Borntrager	24
3.6.2.15	Ensayo de Espuma.....	24
3.6.2.16	Ensayo de Shinoda.....	24
3.6.2.17	Ensayo de Kedde	25
3.6.2.18	Ensayo de Antocianidinas.....	25
3.6.2.19	Ensayo de Mucílagos.....	25
3.6.2.20	Ensayo de Principios Amargos.....	25
3.6.3	Extracción de Aceites Esenciales	25
3.6.4	Método de difusión en agar, técnica de Kirby-Bauer	26
3.6.4.1	Preparación de diluciones del aceite esencial y del control positivo	26
3.6.4.2	Preparación del inóculo y el estándar de turbidez	27
3.6.4.3	Antibiograma con las diluciones del aceite esencial	27
3.6.4.4	Antibiograma en combinación del aceite esencial y el control positivo.....	28
3.6.4.5	Antibiograma en combinación con las diluciones del control positivo	28

CAPITULO IV

4.	MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	29
4.1	Parámetros de control de calidad.....	29
4.2	Tamizaje fitoquímico.....	30
4.2.1	Tamizaje fitoquímico de hojas de <i>Achillea taygeta</i>	30
4.2.2	Tamizaje fitoquímico de hojas de <i>Achillea holosericea</i>	32
4.2.3	Tamizaje fitoquímico de hojas de <i>Tanacetum vulgare</i>	34
4.3	Antibiograma	36
4.3.1	Prueba de sensibilidad de Dimetilsulfóxido (DMSO) y Clorhexidina (CHX) frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25275 a diferentes concentraciones.....	37
4.3.2	Antibiograma de Clorhexidina 2% y los aceites esenciales en dilución.....	38
4.3.3	Antibiograma en combinación de los aceites esenciales y clorhexidina al 2%	39
4.3.4	Antibiograma en combinación de los aceites esenciales y la solución de clorhexidina a distintas concentraciones	41
4.4	Comparación de las combinaciones de los aceites esenciales y las diluciones del control positivo	43
4.5	Análisis de la sinergia entre los mecanismos de acción de los aceites esenciales y la clorhexidina frente a <i>Streptococcus mutans</i>	44
	CONCLUSIONES	44
	RECOMENDACIONES	46
	GLOSARIO	
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2-1: Taxonomía <i>Achillea</i>	12
Tabla 2-2: Taxonomía <i>Tanacetum</i>	13
Tabla 4-1: Control de calidad de <i>Achillea taygeta</i>	29
Tabla 4-2: Control de calidad de <i>Achillea holosericea</i>	29
Tabla 4-3: Control de calidad de <i>Tanacetum vulgare</i>	29
Tabla 4-4: Resultados del tamizaje fitoquímico de la especie <i>Achillea taygeta</i>	30
Tabla 4-5: Resultados del tamizaje fitoquímico de la especie <i>Achillea holosericea</i>	33
Tabla 4-6: Resultados del tamizaje fitoquímico de la especie <i>Tanacetum vulgare</i>	35
Tabla 4-7: Halos de inhibición de las diluciones de DMSO frente a <i>Streptococcus mutans</i>	37
Tabla 4-8: Halos de inhibición de las diluciones de la solución acuosa de clorhexidina al 2% .	37
Tabla 4-9: Resultados del antibiograma, aceites esenciales en disolución de la especie <i>Achillea taygeta</i>	38
Tabla 4-10: Resultados del antibiograma, aceites esenciales en disolución de la especie <i>Achillea holosericea</i>	38
Tabla 4-11: Resultados del antibiograma, aceites esenciales en disolución de la especie <i>Tanacetum vulgare</i>	39
Tabla 4-12: Combinación del aceite de <i>Achillea taygeta</i> y el control positivo.	39
Tabla 4-13: Combinación del aceite de <i>Achillea holosericea</i> y el control positivo.	40
Tabla 4-14: Combinación del aceite de <i>Tanacetum vulgare</i> y el control positivo.	40
Tabla 4-15: Resultados antibiograma, combinación del aceite de <i>Achillea taygeta</i> y las soluciones del control positivo.	41
Tabla 4-16: Resultados antibiograma, combinación del aceite de <i>Achillea holosericea</i> y las soluciones del control positivo.	41
Tabla 4-17: Resultados antibiograma, combinación del aceite de <i>Tanacetum vulgare</i> y las soluciones del control positivo.	42
Tabla 4-18: <i>Achillea taygeta</i> + C(+)	43
Tabla 4-19: <i>Achillea holosericea</i> + C(+)	43
Tabla 4-20: <i>Tanacetum vulgare</i> + C(+)	43

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 3-1: Protocolo de extracción para tamizaje fitoquímico.	20
Ilustración 3-2: Protocolo de tamizaje fitoquímico del extracto etéreo.	21
Ilustración 3-3: Protocolo de tamizaje fitoquímico del extracto alcohólico.	21
Ilustración 3-4: Protocolo de tamizaje fitoquímico del extracto acuoso.	21
Ilustración 3-5: Patrón de distribución de discos en el medio de cultivo.	28

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: CONTROL DE CALIDAD DE LAS ESPECIES ESTUDIADAS

ANEXO B: TAMIZAJE FITOQUIMICO

ANEXO C: OBTENCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

ANEXO D: ACTIVACIÓN DE LA CEPA ATCC Y PRUEBAS DE CRECIMIENTO

ANEXO E: ANTIBIOGRAMA CON LAS DILUCIONES DE DIMETILSULFÓXIDO Y
DILUCIONES DE LOS ACEITES ESENCIALES EN DIMETILSULFÓXIDO
AL 10%

ANEXO F: ANTIBIOGRAMA DE LAS DILUCIONES DE LOS ACEITES ESENCIALES Y
CLORHEXIDINA AL 2%

ANEXO G: ANTIBIOGRAMA DE LA COMBINACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES Y
LA CLORHEXIDINA AL 2%

ANEXO H: ANTIBIOGRAMA DE LAS COMBINACIONES DE LOS ACEITES
ESENCIALES Y CLORHEXIDINA AL 0,05: 0,12 Y 0,2%

ANEXO I: CEPA *Streptococcus mutans* ATCC 25175 - CAPILAB S.A.S.

ANEXO J: IDENTIFICACIÓN DE LA CEPA *Streptococcus mutans* MEDIANTE TINCIÓN
GRAM

ANEXO K: AUTORIZACIÓN DE RECOLECCION DE ESPECIMENES DE ESPECIES DE
LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA

RESUMEN

La presente investigación evaluó la actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 de los aceites esenciales de *Achillea taygeta*, *Achillea holoserica*, *Tanacetum vulgare* y la posible potenciación del efecto de la clorhexidina en combinación con estos. El enfoque de la investigación fue mixto, pues implicó la recolección e interpretación de resultados cualitativos y cuantitativos. Para el análisis del antibiograma se utilizó el método de Kirby-Bauer, que permitió establecer la sensibilidad del agente microbiano frente a los aceites esenciales y el control positivo (clorhexidina), conjuntamente se evaluó la combinación de los aceites y la clorhexidina al 0,05%, 0,12% y 0,2% incubando las muestras a 35°C durante 20 horas. Como parte de los resultados se comprobó que los aceites esenciales poseen actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans*. Además, los halos de inhibición de las combinaciones probadas mostraron un incremento promedio de 4 mm a comparación de los halos control de clorhexidina. Concluyendo que los aceites esenciales estudiados en combinación con clorhexidina pueden usarse en formulaciones bucales para tratar gingivitis y periodontitis cuyo principal causante es *Streptococcus mutans*, ya que actúan como bacteriostáticos y bactericidas. Además, la combinación de aceites esenciales y antibióticos resulta en el incremento de la actividad antibacteriana, lo que puede ser fuente de investigación para reestablecer el uso de antibióticos a los que las bacterias han desarrollado resistencia.

Palabras clave: <*Streptococcus mutans*>, <*Achillea taygeta*>, <*Achillea holosericea*>, <*Tanacetum vulgare*>, <ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA>, <CLORHEXIDINA>, <POTENCIACIÓN>.



Diego Fabián Vique López
C.I 060409900-2

SUMMARY / ABSTRACT

The main objective of this research investigation was to evaluate the antibacterial activity against *Streptococcus mutans* ATCC 25175 of essential oils of *Achillea taygeta*, *Achillea holoserica*, *Tanacetum vulgare* and the possible potentiation of the effect of chlorhexidine in combination with them. The research approach was mixed, involving the collection and interpretation of qualitative and quantitative results. For the antibiogram analysis, the Kirby-Bauer method was used to establish the sensitivity of the microbial agent to the essential oils and the positive control (chlorhexidine). The combination of the oils and chlorhexidine at 0.05%, 0.12% and 0.2% was evaluated together, incubating the samples at 35°C for 20 hours. As part of the results, the essential oils were found to possess antibacterial activity against *Streptococcus mutans*. In addition, the inhibition halos of the tested combinations showed an average increase of 4 mm compared to the chlorhexidine control halos. In conclusion, the essential oils studied in combination with chlorhexidine can be used in oral formulations to treat gingivitis and periodontitis whose main cause is *Streptococcus mutans*, as they act as bacteriostatic and bactericides. In addition, the combination of essential oils and antibiotics results in increased antibacterial activity, which can be a source of research to reestablish the use of antibiotics to which bacteria have developed resistance.

Keywords: <*Streptococcus mutans*>, <*Achillea taygeta*>, <*Achillea holosericea*>, <*Tanacetum vulgare*>, <ANTIBACTERIAL ACTIVITY>, <CLORHEXIDINE>, <POTENTIATION>.



Mgs. Evelyn Carolina Macias Silva

C.I 0603239070

INTRODUCCIÓN

En Ecuador los problemas de salud bucal y en especial los referentes a la periodontitis presentan alta prevalencia y se vinculan a factores como higiene, edad, consumo de cigarrillo y enfermedades sistémicas como diabetes. Representando un obstáculo para el país, por esta razón empresas privadas han encabezado campañas de prevención y concientización, enfocándose en el cepillado y el uso de productos de higiene oral (Parise Vasco et al. 2020, p. 328).

Las enfermedades bucodentales son consideradas un efecto de la pobreza y las diferencias sociales, pues en especial la población económicamente desfavorecida y quienes viven en localidades rurales se ven más afectados debido a su poco acceso a los servicios de salud, siendo las caries dentales, periodontitis, pérdida dental e incluso cáncer bucal las patologías más frecuentes, afectando a más de 1 000 000 000 de personas a nivel mundial con alrededor de 380 000 casos nuevos de cáncer bucal al año (Castañeda y Sotelo 2023, p. 2).

La medicina herbaria es una alternativa para el tratamiento de la mayor parte de enfermedades en el sector rural, siendo apreciada por su costo y formando parte de la atención primaria en salud (Gallegos Zurita 2016, p. 328). Ecuador debido a su gran diversidad y conocimiento ancestral tiene un gran potencial para aprovechar las especies vegetales mediante la investigación de su actividad, convirtiéndose en un solución económica y accesible para la población afectada por enfermedades odonto patógenas (Bermúdez del Sol, Pazmiño y Neira 2022, p. 209).

Del gran número de bacterias de la cavidad bucal *Streptococcus mutans* se considera como el principal agente cariogénico tanto en animales de experimentación como en humanos, pues se ha detectado en la mayoría de niños antes de los doce meses de vida. Esta especie fermenta una gran variedad de azúcares de la dieta produciendo ácidos orgánicos, disminuyendo el pH y provocando la desmineralización del diente. En caso de no tratarse, el progreso irá desde el esmalte externo al interno y hasta la dentina en un periodo de cuatro a seis años, aumentando el grado de la infección en dietas ricas en sacarosa (Machado y Reyes 2021, p. 212).

La familia Asteraceae es la más abundante en el Ecuador contando con una gran cantidad de especies usadas con fines odontológicos, siendo de primera elección en el tratamiento alternativo para aliviar el dolor de muela. Además, su alta efectividad y bajo costo en comparación con la medicina convencional explican el amplio uso de estas especies, un ejemplo dentro de esta familia es la *Minaria cordiflora*, entre sus principios activos se han identificado flavonoides y ácidos

como el gálico, fórmico, acético, orogénico, etc. Usando sus hojas, raíz y tallo en contacto directo con el diente o la mucosa salival en preparados como jarabes, zumos e incluso polvo (Valdéz y Palacios 2022, p. 244).

El tratamiento incluye productos de higiene bucal mecánica pero la utilización de productos complementarios a ella como el enjuague bucal coadyuvan a la detención de estas patologías, puesto que por su composición permiten llegar a zonas difíciles de alcanzar por el resto de productos. Además, están compuestos por antimicrobianos sintéticos siendo primordial la investigación de nuevas fuentes alternativas y de uso efectivo, que en combinación con una formulación líquida como el enjuague bucal representaría un gran aporte a la situación sanitaria del país respecto a las enfermedades odonto patógenas (Ruiz et al. 2023, p. 4).

CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 Planteamiento del problema

A nivel mundial la periodontitis es la segunda patología más frecuente, afectando al bienestar y la calidad de vida de la población que la padece, estas representan un problema de salud pública ya que son responsables de una gran parte de la pérdida dental en la población. En Latinoamérica, la prevalencia es mayor con cifras alarmantes que van desde 15% al 18% de la población (Marín Jaramillo y Duque Duque 2021, p. 84).

Las enfermedades periodontales se desarrollan mediante un proceso inflamatorio, en su etapa inicial se la conoce como gingivitis y en su estado avanzado periodontitis que se vincula a varios factores de riesgo como el tabaquismo, mala higiene bucal, cambios hormonales, diabetes mellitus, estrés, medicamentos, envejecimiento y factores genéticos. El conocimiento de estos factores permite un diagnóstico precoz, identificación, diseño y aplicación de medidas preventivas, así como el tratamiento adecuado reduciendo el riesgo de llegar a estadios irreversibles y crónicos (Sánchez Artigas et al. 2021, p. 14).

Las especies bacterianas han desarrollado resistencia a los antibióticos debido a la prescripción indiscriminada especialmente en Latinoamérica, a causa de ello se buscan nuevas alternativas. Los terpenoides representan una opción terapéutica gracias a su actividad contra periodontopatógenos interfiriendo en los procesos metabólicos bacterianos causando daño estructural y funcional en la membrana (Cruz Olivo, Ramirez Escobar y Contreras Rengifo 2014, p. 206).

1.2 Limitaciones y delimitaciones

1.2.1 Limitaciones

El presente trabajo experimental se vio limitado metodológicamente por la ausencia de sobres GasPak generadores de CO₂, discos de sensibilidad antibiótica impregnados de clorhexidina y la disparidad de los aceites esenciales junto a la solución acuosa del antibiótico.

1.2.2 Delimitaciones

1.2.2.1 Delimitación Geográfica

La recolección del material vegetal se realizará en la Provincia de Pichincha en los sectores con alturas inferiores a los 3 000 m sobre el nivel del mar.

1.2.2.2 Delimitación Temporal

El trabajo experimental tendrá una duración de 120 días a partir de la recolección del material vegetal hasta la obtención y redacción de los resultados.

1.2.2.3 Delimitación de Profundidad

El campo de trabajo experimental irá desde el control de calidad del material vegetal hasta el estudio de sensibilidad de las diluciones del aceite esencial más el control positivo.

1.3 Problema general de investigación

¿Se puede comparar el halo de inhibición de un aceite esencial al de la clorhexidina en solución acuosa al 2% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175?

1.4 Problemas específicos de investigación

- ¿Cuál es el aceite esencial de entre las especies estudiadas que presenta mayor halo de inhibición?
- ¿Es comparable el halo de inhibición de los aceites esenciales y la clorhexidina al 2%?
- ¿Cuál es el grado de sensibilidad de cada una de las diluciones de clorhexidina frente a *Streptococcus mutans*?
- ¿Cómo actúa la combinación de clorhexidina y aceite esencial frente a *Streptococcus mutans*?

1.5 Objetivos

1.5.1 Objetivo general

Evaluar la actividad antibacteriana (*in vitro*) de tres especies vegetales de la familia Asteraceae frente a una cepa odontopatógena.

1.5.2 Objetivos específicos

- Caracterizar los metabolitos secundarios presentes en las especies *Achillea taygeta*., *Achillea holosericea*. y *Tanacetum vulgare*. mediante tamizaje fitoquímico.
- Determinar la actividad antibacteriana de las diluciones del aceite esencial de las especies vegetales mediante un antibiograma y pruebas de sensibilidad.
- Determinar la actividad antibacteriana del aceite esencial más el control positivo a través de un antibiograma y pruebas de sensibilidad.

1.6 Justificación

1.6.1 Justificación teórica

Para el tratamiento de las infecciones periodontales se usan sustancias y medicamentos a los cuales bacterias como *Streptococcus mutans* han desarrollado mecanismos de defensa y resistencia, provocando infecciones difíciles de controlar y combatir de manera eficaz, hasta 2017 se identificaron 9 estudios que muestran una prevalencia y transmisibilidad superior al 50% en esta cepa y en cuanto a la resistencia frente a la clorhexidina, 6 estudios han demostrado que esta cepa presenta una resistencia de 56,7% siendo el antibiótico usado en colutorios con mayor sensibilidad por el momento (Gevrenova et al. 2020, p. 2).

La familia Asteraceae en Ecuador es una de las más usadas con fines terapéuticos y sus aceites esenciales los más destacados por la presencia de terpenoides a los que se le atribuyen sus propiedades farmacológicas (Gevrenova et al. 2020, p. 3).

La potenciación de un antibiótico resultaría en grandes beneficios, pues se lograría tener una mayor cantidad de recursos disponibles para infecciones no solo periodontales si no de otro tipo en el que estén involucradas estas cepas y la formulación de nuevos medicamentos con mayor efectividad, en el caso de las infecciones periodontales puede hablarse de enjuagues bucales, suspensiones, tabletas masticables, etc.

Especies como *Achillea taygeta.*, *Achillea holosericea.* y *Tanacetum vulgare* pertenecientes a la familia Asteraceae, crecen y se desarrollan durante todo el año con resistencia a las épocas de sequía y amplia proliferación. Además, presentan un bajo costo y no ha sido estudiado por completo sobre su potencial farmacológico (Rivero 2020, p. 2).

1.6.2 Justificación metodológica

La investigación desarrollada es de carácter experimental *in vitro*, recolectando resultados a partir de métodos microbiológicos validados y tomados como modelo en investigaciones similares, apoyando el fortalecimiento del área científica.

A partir de la metodología utilizada esta investigación puede ser replicada teniendo validez y confiabilidad respecto a los instrumentos de investigación usados.

1.6.3 Justificación práctica

Este proyecto experimental cuenta con los recursos para ser desarrollado en los laboratorios de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo contribuyendo a la investigación de una alternativa para el tratamiento y prevención de patologías bucales a base de sustancias de origen vegetal.

Su costo se ve reducido gracias a los equipos y materiales de la institución aportando al desarrollo de la investigación farmacéutica y propiciando lo necesario para demostrar el potencial antibacteriano de las especies *Achillea Taygeta*, *Achillea Holosericea* y *Tanacetum vulgare*.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de investigación

2.1.1 *Enfermedades periodontales*

Son consideradas enfermedades inflamatorias crónicas, se caracterizan por formar una biopelícula bacteriana que al unirse a varios factores tanto de origen local como sistémico desencadenan una infección y posteriormente la destrucción de los tejidos de soporte de los dientes como el tejido conectivo, ligamento periodontal, cemento radicular, etc. Una vez producida la infección las principales manifestaciones clínicas son la formación de una bolsa periodontal, sangrado, recesión gingival, movilidad dental, disfunción masticatoria e incluso la pérdida dentaria (García, García y San Juan 2021, p. 643).

2.1.1.1 *Enfermedades periodontales en la población mundial*

En el último informe de la OMS sobre la salud bucodental publicado en noviembre del 2022 con datos de 194 países, se informa que alrededor de la mitad de la población mundial, 3 500 000 personas padecen enfermedades bucodentales y 3 de cada 4 personas afectadas residen en países con recursos económicos bajos (OMS 2022).

Dentro de las enfermedades más frecuentes mundialmente se encuentran las caries dentales, que tiene la mayor prevalencia, mientras que la periodontitis grave es la principal razón de pérdida dental afectando a 1 000 000 000 de personas y el cáncer bucal con 380 000 casos nuevos al año, la prevalencia de estas patologías se atribuye principalmente a la desigualdad de acceso a los servicios de salud bucodental afectando a la población de bajos ingresos, personas con discapacidad, adultos mayores y personas de comunidades rurales (OMS 2022).

2.1.1.2 *Tipos de enfermedades bucodentales.*

La primera clasificación de estas enfermedades se remonta a 1942 cuando se propuso un esquema basado en los principios de la patología básica, la cual fue aprobada por la AAP (Academia Americana de Periodoncia), clasificando a la enfermedad periodontal en tres grupos:

inflamatorios, distróficos y traumáticos mientras que a la periodontitis se la clasificó en simple y compleja. Siguieron surgiendo modificaciones y en noviembre de 1986 la AAP adoptó un nuevo cambio que abarca un mayor número de grupos manteniéndose hasta 1989 cuando se convocó a un nuevo taller y se modificó nuevamente siendo aceptada por los próximos diez años (García, García y San Juan 2021, p. 647).

- Periodontitis del Adulto.
- Periodontitis de Inicio temprano
 - a. Periodontitis prepuberal
 - i. Generalizada
 - ii. Localizada
 - b. Periodontitis Juvenil
 - i. Generalizada
 - ii. Localizada
 - c. Periodontitis Rápidamente Progresiva
- Periodontitis Asociada a Enfermedades Sistémicas
- Periodontitis Ulcerosa Necrosante
- Periodontitis Refractaria.

En 2018 continuaron las modificaciones presentándose una nueva clasificación de las enfermedades periodontales y periimplantarias que se considera es más objetiva a comparación de anteriores, además de haberse introducido por primera vez la salud periodontal dentro del grupo 1, siendo el mayor y más importante cambio debido a que permite un diagnóstico y resultados más precisos, destacando que la salud periodontal puede existir antes del inicio de una enfermedad periodontal y se puede restaurar tras haberla padecido (García, García y San Juan 2021, p. 648).

2.1.1.3 Principales modificaciones introducidas a la nueva clasificación de la enfermedad periodontal y condiciones periimplantarias.

- GRUPO 1: Incluye la salud periodontal, enfermedades y condiciones gingivales.
- GRUPO 2: Periodontitis.
- GRUPO 3: Incluye enfermedades sistémicas y todas aquellas condiciones que afecten el tejido de soporte periodontal.
- GRUPO 4: Incluye enfermedades y condiciones periimplantarias.

2.1.1.4 Situación de la salud bucodental en Ecuador.

La salud dental en Ecuador se puede llegar a considerar precaria en la mayoría de la población y se ve reflejado en la prevalencia de patologías bucales, en el estudio epidemiológico realizado en el año 2010 se reportó que las caries dentales a los 6 años tienen una prevalencia de 79,9%, 12 años con una cifra de 60,8% y 15 años con 71,5%. En cuanto al cáncer oral la tasa de incidencia en los años 2 000 a 2017 es de 1,80 en varones y de 2,32 en mujeres causando un gran impacto en el estado de salud en general (Castañeda y Sotelo 2023b, p. 4).

El estado de salud bucal de la población ecuatoriana se ve influenciada por un enfoque materialista y cultural, pues la desigualdad en las posiciones económicas expone a las personas a diferentes factores ambientales y alimenticios que por consecuencia afectan el estado de salud, además de verse moldeados por la cultura a su alrededor que los predispone al consumo de alcohol, dietas poco saludables o el tabaco, lo que a su vez supone un estilo de vida de alto riesgo (Palomeque 2018, p. 175).

2.1.2 Bacterias Odonto Patogénicas

La principal causa de las enfermedades periodontales son las bacterias orales, estas pertenecen a una amplia comunidad de especies donde *Streptococcus* tiene mayor prevalencia en la placa bacteriana de la cavidad oral, entre las especies con mayor predominio se encuentran *Streptococcus mutans*, *sanguis*, *mitior*, *salivarius* y *miller*. En especial *S. mutans* es conocido como uno de los causantes de la desmineralización del esmalte dental y por consiguiente caries dentales, además de avanzar a posibles bacteriemias y endocarditis infecciosas (Ojeda, Oviedo y Salas 2013, p. 46).

2.1.3 Antibióticos y actividad antibacteriana.

Las enfermedades periodontales siguen un curso de cronicidad, diseminación y desarrollo de varias complicaciones dependiendo del huésped y el manejo terapéutico del antimicrobiano, observándose un incremento en las cepas bacterianas resistentes a los antibióticos tanto por el abuso de estos, como por la abstinencia en las tomas, lo que supone un riesgo activo para el manejo de las infecciones pues se tiene como principal objetivo lograr la erradicación de los agentes patógenos. Dentro de los fármacos de primera elección para el tratamiento de infecciones

odontopatogénicas están los betalactámicos que cuentan con la ventaja de no estar contraindicados en embarazo, lactancia, enfermedades crónicas y en caso de pacientes alérgicos a betalactámicos los antibióticos de elección serían los macrólidos (Moreno y Gómez 2012, p. 174).

2.1.4 Medicina Herbolaria

El estudio de las especies vegetales con fines terapéuticos ahora conocida como medicina herbolaria tiene como objetivo principal brindar una atención más sana al paciente, además de prevenir y dar solución a problemas de resistencia bacteriana y de armonización del organismo al combinar la medicina herbolaria con la dieta y el ejercicio, en el caso de los servicios de odontología se integra este tipo de opción como medicina preventiva dentro de los productos de higiene bucal (Macías Lozano, Loza Menendez y Guerrero Vardelly 2019, p. 769).

Dentro del tratamiento odontológico, las plantas que más destacan al ser usadas y estudiadas son el Romero y la caléndula empleados como antiinflamatorios en aftas bucales, heridas en la mucosa y quemaduras, la sábila usada en gingivitis descamativa y GEHA (gingivostomatitis herpética aguda), el ajo y romerillo usados en odontalgias, GEHA y GUNA (gingivitis ulcerosa necrosante aguda), el llantén usado en gingivitis crónica, GEHA, ulceraciones, odontalgia y alveolitis (Macías Lozano, Loza Menendez y Guerrero Vardelly 2019, p. 770).

2.1.5 Aceites esenciales

Los aceites esenciales formados por compuestos orgánicos han demostrado una gran eficacia en el control de inflamaciones del tejido bucal, además de una reducción significativa del biofilm supragingival mejorando la salud bucal de los pacientes. Las formulaciones de colutorios principalmente usan antibióticos, pero su combinación con aceites esenciales está llegando a competir ampliamente en el mercado por su eficacia y capacidad para romper la pared celular de varios microorganismos suprimiendo su actividad enzimática e inhibiendo las endotoxinas de los patógenos (Asquino et al. 2016, p. 5).

2.1.6 Familia Asteraceae

2.1.6.1 Descripción

Se estima que esta familia es una de las más grandes a nivel mundial con alrededor de 1 535 géneros y hasta 32 000 especies, además es considerada como una familia cosmopolita debido a su gran capacidad de adaptación y crecimiento pues se distribuye en la gran mayoría de latitudes, atribuyéndose esta característica a sus mecanismos de dispersión y a las variadas condiciones ecológicas por lo que es común verlas compitiendo con especies o cultivos nativos de una zona (Muñoz 2010, p. 83).terpen

2.1.6.2 Características

Familia herbácea que incluye especies lianoides y leñosas, sus hojas son simples o compuestas dispuestas alrededor del tallo comúnmente en roseta, ciertas especies han desarrollado espinas como mecanismo de defensa frente a herbívoros, en cuanto al fruto este es seco con una única semilla. Químicamente esta familia es considerada muy rica en cuanto a metabolitos secundarios siendo muy comunes los sesquiterpenos amargos, poliacetilenos, terpenoides volátiles y varios tipos de alcaloides entre otros compuestos (Molina, López del Rincón y Agroforestales 2016, p. 2).

2.1.7 Achillea

2.1.7.1 Características

Plantas herbáceas con tallos ascendentes de entre 8 a 10 centímetros generalmente son simples y pubescentes, sus hojas son lanceoladas o lineales de 3 a 5 cm de largo y entre 0,5 y 1,2 centímetros de ancho, se caracterizan por ser pinadas y divididas con numerosos segmentos lineales y de color marrón claro hasta un tono casi negro. Las inflorescencias son pequeñas y compactas con flores comúnmente blancas y purpura, esta especie es considerada polimorfa y su época de floración va desde mayo o junio hasta septiembre mientras que el crecimiento y la siembra puede realizarse en cualquier época del año debido a la alta resistencia y adaptabilidad a la diversidad climatológica (Muñoz, Santos y Beato 1999, p. 119).

2.1.7.2 Taxonomía

La tabla 2-1 describe el nivel jerárquico en el que se clasifica el género *Achillea*, también conocido como taxonomía.

Tabla 2-1: Taxonomía Achillea

<i>Categoría taxonómica</i>	
<i>Reino</i>	Plantae
<i>Subreino</i>	Tracheobionta
<i>Superdivisión</i>	Spermatophyta
<i>División</i>	Magnoliophyta
<i>Clase</i>	Magnoliopsida
<i>Subclase</i>	Asteridae
<i>Orden</i>	Asterales
<i>Familia</i>	Asteraceas
<i>Género</i>	Achillea

Fuente: (Muñoz, L. et al. 1999).

Realizado por: Chimbo K., 2023.

2.1.7.3 *Composición Química*

Estas especies pueden llegar a contener hasta un 50% de camazuleno formado a partir de lactonas sesquiterpénicas, en general su composición varía según el cariotipo de la planta, pero los componentes principales son los azulenos, camazuleno, el beta-pineno, alfa-pineno y cariofileno. Los componentes identificados en el aceite esencial son los poliacetilenos, flavonoides, ácidos fenólicos, triterpenos, esteroides, cumarinas, taninos, estaquidrina, colina, glicinbetaína, heterósido cianogénico prunasina y en las partes subterráneas de la planta se llegan a acumular alcanidas (Muñoz, Santos y Beato 1999, p. 124).

2.1.7.4 *Usos*

Utilizada en diversas regiones del mundo por sus propiedades cicatrizantes, antihemorrágicas y analgésicas, en el norte de Europa y América sus nativos las usaban como anticonceptivos, abortivos y como estimulante menstrual. Las especies de Achillea son reconocidas también por su alta actividad hipoglucemiante, como antiulceroso y frente a distintos tipos de bacterias, hongos y parásitos, atribuyendo sus propiedades a su diversidad en cuanto metabolitos secundarios y mostrando un fuerte potencial investigativo (Saeidnia S et al. 2011, p. 180).

2.1.8 *Tanacetum*

2.1.8.1 Características

Planta perenne originaria de zonas templadas e introducida a América con fines medicinales y hortícolas creciendo actualmente de forma silvestre, tiene hojas de color verde que van de 15 a 25 cm de largo, sus corimbos en forma de botón tienen de 10 a 70 flores capitulares amarillas que poseen un fuerte aroma proveniente de sus aceites (Aćimović y Puvaća 2020, p. 416).

Su apariencia es similar a las margaritas por lo que es común encontrar esta especie en jardines y bordes de carreteras, crece hasta 1 m en altura floreciendo desde julio hasta octubre, es también conocida como pluma debido a sus hojas y tiene una larga historia de uso tomando importancia como un agente medicinal multipropósito (Pareek et al. 2011, p. 104).

2.1.8.2 Taxonomía

La tabla 2-2 describe el nivel jerárquico en el que se clasifica el género *Tanacetum*.

Tabla 2-2: Taxonomía *Tanacetum*

<i>Categoría taxonómica</i>	
<i>Reino</i>	Plantae
<i>Subreino</i>	Tracheobionta
<i>Superdivisión</i>	Spermatophyta
<i>División</i>	Magnoliophyta
<i>Clase</i>	Magnoliopsida
<i>Subclase</i>	Asteridae
<i>Orden</i>	Asterales
<i>Familia</i>	Asteraceae
<i>Género</i>	<i>Tanacetum</i>

Fuente: (Pareek, A. et al. 2011).

Realizado por: Chimbo K., 2023.

2.1.8.3 Composición química

Sus constituyentes químicos son variables, el aceite esencial presenta un alto contenido de tuyoona, que puede provocar vómitos y sangrado uterino, además de componentes amargos, terpenos, 1,8-

cineol, trans tujona, alcanfor, mirtenol, crisantenona, cimeno, iso tujona y acetato de bornilo (Kumar y Tyagi 2013, p. 160).

En su composición se encuentran mayoritariamente flavonoides, ácidos volátiles, cumarinas y lactonas sesquiterpénicas conocidas como los principios biológicamente más activos destacando la partenolina presente en las glándulas de las hojas, este compuesto representa el 85% del total del contenido de sesquiterpenos (Pareek et al. 2011, p. 104).

2.1.8.4 Usos

Sus compuestos químicos han demostrado una importante actividad analgésica, antibacteriana, antiinflamatoria y antipirética. Las semillas de esta especie tienen una alta actividad contra bacterias gram positivas, levaduras y hongos filamentosos. Además, sus extractos mostraron actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Candida tropicalis* (Kumar y Tyagi 2013, p. 160).

Su componente químico principal, las lactonas sesquiterpénicas, han demostrado efectos bactericidas frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, mientras que compuestos como los monoterpenos le confieren la propiedad epileptógena siendo un potente convulsivo (Kumar y Tyagi 2013, p. 160).

2.2 Referencias Teóricas

2.2.1 Terpenos

Su nombre proviene del alemán Terpentin, también llamados terpenoides, son constituyentes de los aceites esenciales desempeñando en ellos un papel farmacológico importante, se clasifican según el número de unidades de isopreno que se unen (Ramírez Ramírez 2006, p. 41).

2.2.2 Sesquiterpenos

Formado por 3 unidades de isopreno, sus principales compuestos químicos son cedrol, azulenos y farnesol, generalmente son los responsables del fuerte olor en las especies vegetales (Ramírez Ramírez 2006, p. 41).

2.2.3 *Albrigi Spring*

Extractor que usa la técnica de destilación a vapor para obtener aceites esenciales y agua aromática, cuenta con una capacidad de 12 litros y se puede usar con flores, raíces, resinas, hojas y ramas pequeñas (ALBRIGI IN HERBA 2020, p. 2).

2.2.4 *Antibiograma*

Técnica de laboratorio que tiene como objetivo evaluar la respuesta de un microorganismo a uno o varios antibióticos y traducir esta respuesta en un factor predictivo sobre la eficacia clínica del antibiótico (Cantón 2010, p. 376).

2.2.5 *Tamizaje fitoquímico*

Serie de ensayos simples, rápidos y selectivos que tienen como objetivo la detección cualitativa de grupos o familias de metabolitos secundarios a partir de extractos etéreo, etanólico y acuoso de hojas, tallos, cáscara, semillas o raíces de especies vegetales (Morales et al. 2011, p. 333).

2.2.6 *Streptococcus mutans ATCC 25175*

Coco gram positivo anaerobio facultativo, principal responsable de las caries dentales, con dietas altas en carbohidratos es un productor de ácidos orgánicos responsables de la desmineralización de los dientes y lesiones en el tejido bucal (Checalla y Sánchez 2021, p. 147).

2.2.7 *Clorhexidina*

Uno de los principales antisépticos usados en odontología para desinfección, inhibe la formación de placa bacteriana además de tener actividad residual al unirse a la queratina y ser poco irritante, suele presentarse en concentraciones al 0,12% y al 0,2% (Cova et al. 2020, p. 7).

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1 Enfoque de Investigación

Se maneja un enfoque mixto, pues se está implicando la recolección e interpretación de datos cualitativos y cuantitativos. La metodología usada nos vierte datos cualitativos como en el tamizaje fitoquímico y el grado de sensibilidad de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 frente al antibiótico y datos cuantitativos en cuanto a las concentraciones y la medida de los halos en el antibiograma.

3.2 Nivel de Investigación

3.2.1 *Nivel correlacional*

Investiga la relación que existe entre 2 o más variables, para este caso se medirá la relación entre la actividad antibacteriana, los aceites esenciales y sus diluciones para posteriormente medir la afinidad y el potencial del aceite esencial más el control positivo.

3.2.2 *Nivel aplicativo*

Resuelve problemas con el fin de aportar a la comunidad científica transformando el conocimiento y métodos actuales. El proyecto experimental presentado expone una alternativa en el tratamiento y prevención de patologías bucales basado en especies vegetales de uso común en la medicina tradicional.

3.3 Diseño de Investigación

3.3.1 *Según la manipulación o no de la variable independiente*

Se usa un diseño de investigación experimental dado que la manipulación de la variable independiente es necesaria. Este diseño está integrado por métodos y técnicas que nos permiten obtener información y datos necesarios para estudiar la hipótesis planteada.

3.4 Tipo de estudio

3.4.1 Investigación bibliográfica

La fuente de obtención de la información necesaria serán libros, revistas, artículos científicos o cualquier documento de apoyo para la investigación, teniendo en cuenta que debe ser relevante y confiable.

3.4.2 Investigación de laboratorio

Se parte de una hipótesis que puede ser confirmada o desmentida mediante la experimentación, se manipula las variables independientes y se estudia la modificación de las variables dependientes en respuesta al cambio generando así nuevo conocimiento.

3.5 Población y Planificación, selección y cálculo de tamaño de la muestra

La población usada serán las partes aéreas de las especies vegetales *Achillea taygeta*, *Achillea holosericea* y *Tanacetum vulgare* que se recolectarán en la provincia de Pichincha en los sectores con alturas inferiores a 3 000 m sobre el nivel del mar, mediante un muestreo aleatorio simple para obtener 2 kg de cada especie vegetal (Sánchez González y González Ledesma 2007, p. 127).

Para la recolección del material vegetal se tomará en cuenta los siguientes criterios.

3.5.1 Criterios de inclusión

Especies vegetales de buen estado, sin manchas, de colores característicos y con superficies íntegras.

3.5.2 Criterios de exclusión

Especies vegetales que presenten daños por acción de insectos o animales, deterioro por condiciones ambientales, estén en proceso de descomposición o contaminación microbiológica.

3.6 Métodos, técnicas e instrumentos de investigación

3.6.1 *Parámetros de control de calidad del material vegetal*

Los ensayos se realizan por triplicado en base a métodos fisicoquímicos para garantizar la calidad del material vegetal y están establecidos en el folleto de Farmacognosia y Productos naturales (Miranda 2002, p. 69).

Es necesario para continuar con los ensayos que la planta haya sido secada a 40 °C y posteriormente triturada.

3.6.1.1 *Determinación del contenido de humedad*

Permite determinar la cantidad de agua presente en la planta y por consecuencia su estabilidad o riesgo de contaminación microbiana.

Procedimiento: En una balanza analítica se pesa 2 g de la planta seca y triturada, a esta se la coloca en el platillo de la termobalanza ya calibrada y se inicia el análisis durante 5 minutos hasta obtener en la pantalla el valor en porcentaje de humedad.

3.6.1.2 *Determinación de cenizas totales*

Representan el contenido inorgánico o de minerales total en el material vegetal detectado a partir de una incineración.

Procedimiento: Se pesa 2 g de la muestra triturada en un crisol previamente tarado, se lleva a carbonizar la muestra y posteriormente a incinerar en la mufla a 750 °C durante dos horas. Al transcurrir el tiempo necesario se lleva el crisol a un desecador para enfriar y pesar hasta que dos pesos seguidos no difieran en más de 0,5 mg por g, es decir sea una masa constante.

Para obtener el resultado de cenizas totales en porcentaje se usa la siguiente expresión.

$$C = \frac{M2 - M1}{M2 - M} \times 100$$

Donde:

C = porcentaje de cenizas totales

M = masa del crisol vacío (g)

M1 = masa del crisol con la porción de ensayo (g)

M2 = masa del crisol con la ceniza (g)

100 = factor matemático para el cálculo en porcentaje

3.6.1.3 *Determinación de cenizas solubles en agua*

Procedimiento: A la muestra obtenida del ensayo de cenizas totales se le añade 15 mL de agua, se tapa el crisol y se mantiene en ebullición durante 5 minutos. Se filtra y las cenizas restantes se colocan en el crisol para carbonizar y posteriormente incinerar por dos horas. Se coloca en el desecador para enfriar la muestra y se pesa hasta llegar a una masa constante.

Para obtener el resultado de cenizas solubles en agua en porcentaje se usó la siguiente expresión.

$$C = \frac{M2 - M1}{M2 - M} \times 100$$

Donde:

C = porcentaje de cenizas solubles en agua

M = masa del crisol vacío (g)

M1 = masa del crisol con las cenizas totales(g)

M2 = masa del crisol con la ceniza (g)

100 = factor matemático para el cálculo en porcentaje

3.6.1.4 *Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico*

Procedimiento: A las cenizas totales obtenidas se les añade de 2 a 3 mL de ácido clorhídrico al 10% en un crisol, se lo tapa con un vidrio reloj para calentarlo a baño maría durante 10 minutos. Se lava el vidrio reloj con 5 mL de agua caliente teniendo cuidado de que el borde del vidrio reloj toque el borde interior del crisol, se filtra y lava el residuo con agua caliente, hasta que el filtrado acidulado con ácido nítrico al cual se añadió dos gotas de nitrato de plata 0,1 mol/L no muestre presencia de cloruros y se coloca en una estufa a 105 °C por 2 horas, se enfría en el desecador y se pesa hasta llegar a masa constante.

Para obtener el resultado de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en porcentaje se usó la siguiente expresión.

$$C = \frac{M2 - M1}{M2 - M} \times 100$$

Donde:

C = porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

M = masa del crisol vacío (g)

M1 = masa del crisol con las cenizas totales (g)

M2 = masa del crisol con la ceniza (g)

100 = factor matemático para el cálculo en porcentaje

3.6.2 Tamizaje Fitoquímico

3.6.2.1 Extracción sucesiva del extracto etéreo, etanólico y acuoso

Para el método de extracción sucesiva se secó el material vegetal, en este caso las hojas y flores de la planta y se trituraron para seguir con los pasos del protocolo descrito en las Ilustraciones 3-1 hasta la 3-4, métodos establecidos por (Miranda 2002, p. 111).

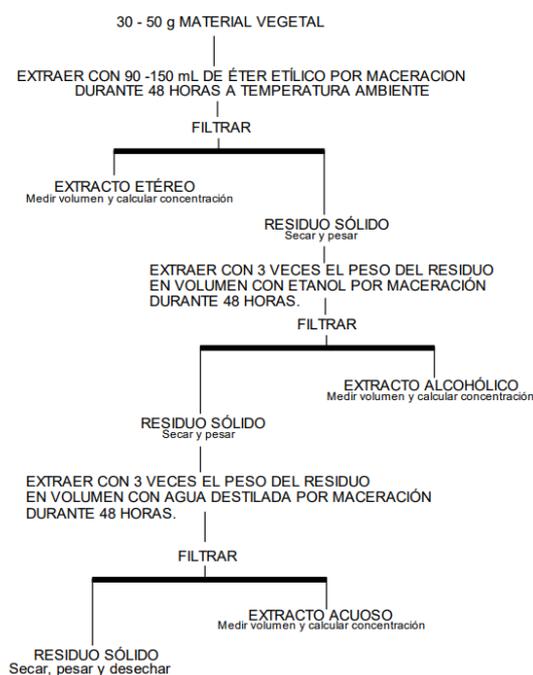


Ilustración 3-1: Protocolo de extracción para tamizaje fitoquímico.

Fuente: (Miranda, M. 2002)

3.6.2.2 Identificación de metabolitos secundarios

Tras haber obtenido los extractos se identificó los metabolitos secundarios en base a los siguientes protocolos.

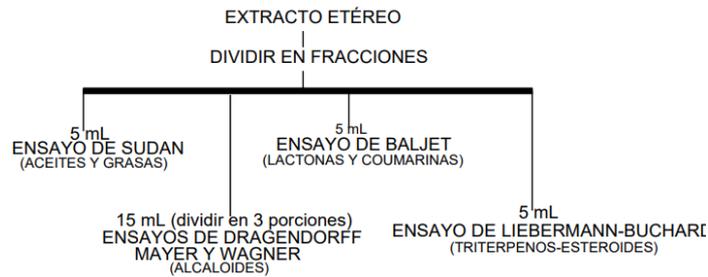


Ilustración 3-2: Protocolo de tamizaje fitoquímico del extracto etéreo.

Fuente: (Miranda, M. 2002)

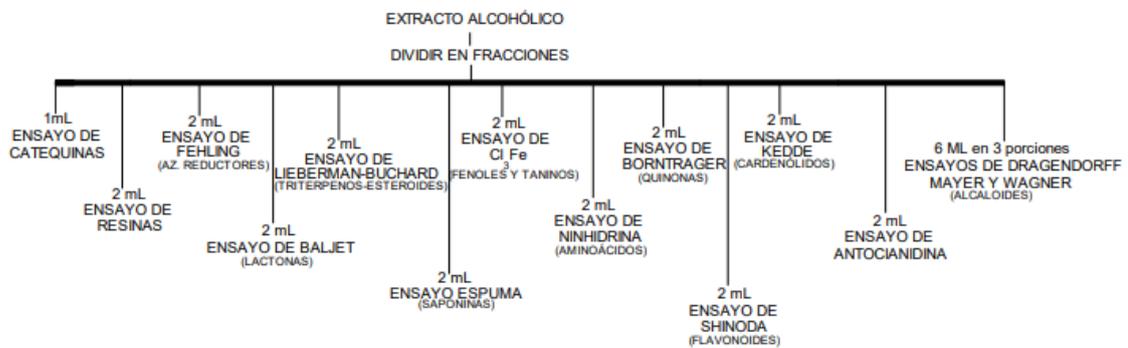


Ilustración 3-3: Protocolo de tamizaje fitoquímico del extracto alcohólico.

Fuente: (Miranda, M. 2002)

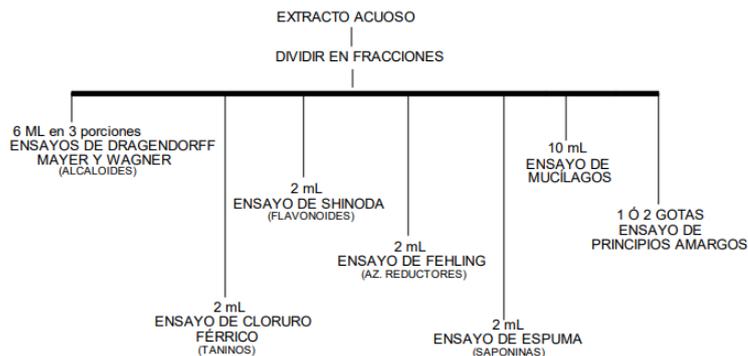


Ilustración 3-4: Protocolo de tamizaje fitoquímico del extracto acuoso.

Fuente: (Miranda, M. 2002)

3.6.2.3 *Ensayo de Sudán*

Identifica la presencia de compuestos grasos añadiendo 5 mL de extracto en un tubo de ensayo y sumando 1 mL de reactivo sudan III o IV para llevarlo a evaporar en baño maría.

Interpretación positiva: presencia de gotas o de una coloración roja en la superficie del líquido o en las paredes del tubo de ensayo.

3.6.2.4 *Ensayo de Dragendorff*

Identifica alcaloides mediante la evaporación del solvente en 5 mL de extracto en un tubo de ensayo, al residuo se le añade ácido clorhídrico al 1% en agua, en caso del extracto acuoso se añade una gota de ácido clorhídrico concentrado y 3 gotas de reactivo Dragendorff.

Interpretación positiva: (+) Opalescencia, (++) Turbidez definida y (+++) Precipitación.

3.6.2.5 *Ensayo de Mayer*

Identifica alcaloides con un proceso similar al ensayo de Dragendorff con la diferencia de que se añadió una pizca de cloruro de sodio en polvo, se agitó, filtró y se agregó 3 gotas de reactivo de mayer.

Interpretación positiva: (+) Opalescencia, (++) Turbidez definida y (+++) Precipitación.

3.6.2.6 *Ensayo de Wagner*

Identifica alcaloides mediante la evaporación del solvente en 5 mL del extracto, al residuo se añade 1 mL de ácido clorhídrico al 1% en agua y en caso del extracto acuoso se añade una gota de ácido clorhídrico concentrado y 3 gotas de reactivo de Wagner.

Interpretación positiva: (+) Opalescencia, (++) Turbidez definida y (+++) Precipitación.

3.6.2.7 *Ensayo de Baljet*

Identifica compuestos con grupos lactónicos como las cumarinas al evaporar el solvente en 5 mL de extracto, al residuo se añade 1 mL de alcohol etílico y 1 mL de reactivo de Baljet.

Interpretación positiva: (++) Coloración rojiza y (++++) Precipitación de color rojo.

3.6.2.8 *Ensayo de Liebermann-Burchard*

Identifica la presencia de triterpenos y esteroides. Se evapora el solvente en 5 mL del extracto, al residuo se añade 1 mL de cloroformo y 1 mL de anhídrido acético, se mezcla y añade 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado por las paredes del tubo de ensayo.

Interpretación positiva: cambio de coloración brusco, muy rápido (Rosado – Azul), rápido (Verde intenso) y fin de reacción (oscuro - negro).

3.6.2.9 *Ensayo de Catequinas*

Se toma una gota de extracto etanólico con un capilar, se coloca en un papel filtro y se adiciona una gota de solución de carbonato de sodio.

Interpretación positiva: Mancha verde carmelita en el papel filtro al introducirlo en una cámara UV.

3.6.2.10 *Ensayo de Resinas*

Se toma 5 mL del extracto etanólico, se añade 10 mL de agua destilada y se deja reposar.

Interpretación positiva: presencia de un precipitado

3.6.2.11 *Ensayo de Fehling*

Identifica la presencia de azúcares reductores, se toma 5 mL de extracto y se evapora hasta llegar a sequedad, se disuelve el residuo en 2 mL de agua. Se añade 2 mL de reactivo de Fehling y se calienta en baño maría por 10 minutos.

Interpretación positiva: Cambio de coloración a rojo o formación de un precipitado rojo.

3.6.2.12 *Ensayo de Cloruro Férrico*

Identifica la presencia de fenoles y taninos, a 5 mL del extracto se añade acetato de sodio y 3 gotas de cloruro férrico al 5% en solución salina.

Interpretación positiva: cambio de coloración, rojo – vino (fenoles), verde intenso (taninos pirocatecólicos) y azul (taninos pirogalotánicos).

3.6.2.13 Ensayo de Ninhidrina

Identifica aminoácidos libres o aminas, se volatiliza el solvente de 2 mL del extracto alcohólico, se adiciona 2 mL de la solución de ninhidrina al 2% en agua y se calienta de 5 a 10 minutos a baño maría.

Interpretación positiva: Coloración azul-violácea

3.6.2.14 Ensayo de Borntrager

Identifica las quinonas, se toma 5 mL del extracto y evapora a baño maría el solvente hasta sequedad, se añade 1 mL de cloroformo y 1 mL de hidróxido de sodio al 5% en agua, se homogeniza y se deja reposar hasta la separación de fases.

Interpretación positiva: Fase superior con coloración rosada o roja (++)

3.6.2.15 Ensayo de Espuma

Identifica la presencia de saponinas, se toma 2 mL de extracto etanólico, se diluye en 5 veces su volumen de agua mezclando y agitando por 10 minutos.

Interpretación positiva: presencia de espuma de más de 2 mm de altura y persistente durante un tiempo.

3.6.2.16 Ensayo de Shinoda

Identifica flavonoides, se diluye 5 mL de extracto etanólico o acuoso con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y una tira de magnesio. Se espera hasta que termine la reacción y se adiciona alcohol amílico dejándolo reposar hasta que se separen las fases.

Interpretación positiva: cuando el alcohol amílico toma una coloración amarilla e incluso rojiza.

3.6.2.17 *Ensayo de Kedde*

Identifica la presencia de aminoácidos libres o aminas, en el extracto alcohólico se coloca 1 mL de reactivo de kedde dejándolo reposar de 5 a 10 minutos.

Interpretación positiva: coloración violácea persistente por 1 a 2 horas.

3.6.2.18 *Ensayo de Antocianidinas*

Identifica flavonoides, se tomó 2 mL del extracto alcohólico, se añade 1 mL de ácido clorhídrico concentrado, se calienta durante 10 minutos, se deja enfriar y se añade 1 mL de agua y 2 mL de alcohol amílico posteriormente se agita y se deja reposar hasta la separación de fases.

Interpretación positiva: Coloración roja o marrón en la fase amílica.

3.6.2.19 *Ensayo de Mucílagos*

Identifica la presencia de polisacáridos, se toma 2 mL del extracto y se enfría a temperaturas de 0 a 5 °C.

Interpretación positiva: consistencia gelatinosa.

3.6.2.20 *Ensayo de Principios Amargos*

Se toma 1 gota del extracto acuoso y se procede a saborear y reconocer su sabor.

Interpretación positiva: Sabor amargo.

3.6.3 *Extracción de Aceites Esenciales*

Tras obtener el material vegetal se agrega agua hasta el nivel establecido por la rejilla en el equipo Albri Spring, se lava las hojas y flores para colocarlas en la caldera evitando la formación de

tubos de salida para el vapor. Se coloca la parrilla superior y se cierra la tapa del destilador para posteriormente fijar el tubo de conexión de vapor y la bureta de vidrio.

Se enciende la fuente de calor que no debe sobrepasar los 100 °C, se pone en funcionamiento el refrigerante y transcurrida una hora verificar la extracción, apagar la fuente de calor y recuperar el aceite extraído.

3.6.4 Método de difusión en agar, técnica de Kirby-Bauer

Es un método cualitativo recomendado por el NCCLS (National Committee for clinical laboratory Standards) que permite determinar la sensibilidad de una cepa frente a un antibacteriano. Está diseñado específicamente para microorganismos de crecimiento rápido, además de estar recomendado para Laboratorios clínicos por ser una prueba rápida, práctica y reproducible (Bernal y Guzman 1984, p. 112).

3.6.4.1 Preparación de diluciones del aceite esencial y del control positivo

Una vez se obtuvieron los aceites esenciales se realiza diluciones para obtener 4 concentraciones, la primera será el aceite esencial como tal, la segunda dilución será de 1:10 preparada a partir de 900 uL de dimetilsulfóxido y 100 uL del aceite esencial, la tercera dilución es de 1:100 y se prepara mezclando 900 uL de dimetilsulfóxido y 100 uL de la dilución 1:10 y por último la tercera dilución 1:1000 está compuesta de 900 uL de dimetilsulfóxido y 100 uL de la dilución 1:100.

La clorhexidina (control positivo) es necesaria en cuatro concentraciones, al 2%, 0,12%, 0,2% y 0,05%, para preparar las diluciones de la clorhexidina se calcula el volumen necesario para cada una a partir de la siguiente ecuación.

$$C1V1 = C2V2$$

Donde:

C1 = Concentración de la clorhexidina

V1 = volumen necesario para obtener la concentración deseada (uL)

C2 = Concentración deseada

V2 = Volumen final a obtener (1000 uL)

Una vez obtenido el volumen necesario para llegar a la concentración deseada se pipetea dicha cantidad en un tubo eppendorf y se añade el restante de las 1000 uL de dimetilsulfóxido.

3.6.4.2 Preparación del inóculo y el estándar de turbidez

Se prepara el inóculo seleccionando entre 4 a 5 colonias del microorganismo de interés, preferentemente de un cultivo puro o de un aislamiento primario sin usar un cultivo que haya sobrepasado las 24 horas, es decir colonias cultivadas hasta fase exponencial (20 horas). Incubar a 37 °C por 18 a 20 horas.

El estándar de turbidez o estándar de McFarland a usar es de 0,5, que se prepara al añadir 0,05 mL de $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ a 9,95 mL de H_2SO_4 0,36N. Se homogeniza y se coloca de 6 a 8 mL en tubos de tapa rosca.

3.6.4.3 Antibiograma con las diluciones del aceite esencial

Se debe realizar la siembra por triplicado mediante el método de Kirby Bauer, una vez activada la cepa se prepara el medio de cultivo (Mueller Hinton) disolviendo 38 g en 1 litro de agua destilada calculando la cantidad dependiendo del número de placas. Esterilizar en autoclave a 116 °C durante 30 minutos, distribuir el agar con aproximadamente 15 a 20 mL por placa Petri estéril, dejando enfriar a temperatura ambiente hasta que el exceso de humedad se evapore.

Para la siembra de la muestra se toma un aplicador de algodón y se sumerge en la suspensión con el microorganismo de estudio rotando por las paredes y quitando el exceso del inóculo, se siembra uniformemente por la superficie del medio usando el método de agotamiento. Se deja reposar y secar el medio hasta 20 minutos con la caja Petri cerrada para posteriormente colocar los discos en blanco sobre la superficie del medio con una separación aproximada de 2 cm.

Se colocan 6 discos en total y se pipetea 0,15 uL en cada uno, el control negativo (dimetilsulfóxido), el control positivo (Clorhexidina al 2%) y las 4 concentraciones del aceite esencial. Por último, se deja secar los discos y se colocan las placas de manera invertida en la cámara anaeróbica durante 18 a 20 horas a 37 °C.

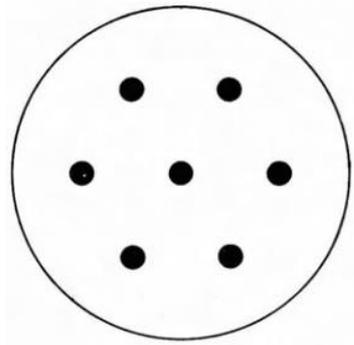


Ilustración 3-5: Patrón de distribución de discos en el medio de cultivo.

Fuente: (Bernal, M. 1984)

3.6.4.4 Antibiograma en combinación del aceite esencial y el control positivo

El proceso de preparación del agar y siembra siguen el método descrito anteriormente, el número de discos en este caso se reduce a 4 colocando en el control positivo 0,15 uL de clorhexidina, el control negativo 0,15 uL de dimetilsulfóxido, en el disco cuya combinación es la del aceite esencial concentrado y el control positivo se agrega 0,075 uL de cada uno dando un total de 0,15 uL en el disco, lo mismo se realiza en la combinación de aceite esencial con concentración 1:10 más el control positivo. Por último, se deja secar los discos y se incuba bajo las condiciones ya descritas.

3.6.4.5 Antibiograma en combinación con las diluciones del control positivo

El proceso de preparación del agar y siembra siguen el método descrito anteriormente, el número de discos en este caso se reduce a 4 colocando en el control negativo 0,15 uL de dimetilsulfóxido y en los discos restantes las concentraciones de clorhexidina al 0,2%, 0,12% y 0,05% sumado al aceite esencial concentrado, como se mencionó anteriormente en cada disco se colocó 0,075 uL tanto de la clorhexidina en distintas concentraciones como del aceite esencial dando un total de 0,15 uL por disco. Por último, se deja secar los discos y se incuba bajo las condiciones ya descritas.

CAPÍTULO IV

4. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 Parámetros de control de calidad

Las Tablas 4-1, 4-2 y 4-3 reflejan los valores de referencia y resultados obtenidos en los parámetros de control de calidad de las especies *Achillea taygeta*, *Achillea holosericea* y *Tanacetum vulgare*.

Tabla 4-1: Control de calidad de *Achillea taygeta*.

<i>Parámetros</i>	<i>Resultados (%)</i>	<i>Referencia en base a la USP 42 (%)</i>
<i>Cenizas Totales</i>	8,962	<10
<i>Cenizas Solubles de agua</i>	8,941	>2
<i>Cenizas insolubles en ácido clorhídrico</i>	2,182	<3
<i>Contenido de humedad</i>	9,994	<12

Realizado por: Chimbo K., 2023.

Tabla 4-2: Control de calidad de *Achillea holosericea*.

<i>Parámetros</i>	<i>Resultados (%)</i>	<i>Referencia en base a la USP 42 (%)</i>
<i>Cenizas Totales</i>	8,451	<10
<i>Cenizas Solubles de agua</i>	6,636	>2
<i>Cenizas insolubles en ácido clorhídrico</i>	1,972	<3
<i>Contenido de humedad</i>	9,676	<12

Realizado por: Chimbo K., 2023.

Tabla 4-3: Control de calidad de *Tanacetum vulgare*.

<i>Parámetros</i>	<i>Resultados (%)</i>	<i>Referencia en base a la USP 42 (%)</i>
<i>Cenizas Totales</i>	10,553	<12
<i>Cenizas Solubles de agua</i>	8,784	<15
<i>Cenizas insolubles en ácido clorhídrico</i>	1,332	<3

Contenido de humedad

9,040

<10

Realizado por: Chimbo K., 2023.

Los parámetros del control de calidad realizado a las especies *Achillea taygeta*, *Achillea holosericea* y *Tanacetum vulgare* se encuentran dentro del rango establecido por la USP 42, indicando que las hojas fueron tratadas adecuadamente durante la recolección, secado y almacenamiento.

Gutiérrez & Gonzáles, 2021 expresan que la pérdida por secado tiene como objetivo evitar el crecimiento bacteriano y la hidrólisis de los constituyentes químicos. El valor de cenizas totales y cenizas solubles en agua, indican que las sales minerales como carbonatos, sulfatos, sílice y silicatos no representan un riesgo en la calidad del material vegetal. Los valores obtenidos en las cenizas insolubles en ácido clorhídrico demuestran que la presencia de sílice y metales pesados en la composición de las plantas es mínima.

Kumar et al. 2021 realizó los análisis físico químicos de *Achillea taygeta* estableciendo valores similares a los obtenidos en el laboratorio, además revela que los fitoconstituyentes de esta especie son mayoritariamente solubles en agua. Mustafa et al. 2012, estudió los parámetros de *Achillea holosericea* sin diferencias significativas en los resultados, además analizó la toxicidad de los extractos acuoso y alcohólico revelando una naturaleza no tóxica y Fazal, Ahmad y Ajab Khan 2011, indica para *Tanacetum vulgare* parámetros iguales a los establecidos por la USP 42 revelando un alto potencial extractivo de sus constituyentes en agua.

4.2 Tamizaje fitoquímico

Las tablas 4-4, 4-5 y 4-6 plasman los resultados obtenidos del tamizaje fitoquímico de los extractos etéreo, alcohólico y acuoso de las especies *Achillea taygeta*, *Achillea holosericea* y *Tanacetum vulgare*.

4.2.1 Tamizaje fitoquímico de hojas de *Achillea taygeta*

Tabla 4-4: Resultados del tamizaje fitoquímico de la especie *Achillea taygeta*.

Determinación de metabolitos	Indicadores	Tipo de extracto		
		Etéreo	Alcohólico	Acuoso

SUDÁN (Aceites - Grasas)	Color rojo (+)	(+)	(+)	(+)
BALJET (Lactonas - Cumarinas)	Color rojo (++) Precipitado rojo (+++)	(+++)	(++)	(++)
DRAGENDORFF (Alcaloides)	Opalescencia (+)	(+++)	(++)	(++)
WAGNER (Alcaloides)	Turbidez definida (++) Precipitado (+++)	(+++)	(++)	(++)
MAYER (Alcaloides)		(+++)	(++)	(++)
LIEBERMANN BURCHARD (Triterpenos - Esteroides)	Rosado – Azul (+) Verde intenso (++) Verde oscuro – Negro (+++)	(++)	(++)	(++)
CATEQUINAS RESINAS	Mancha verde carmelita (+) Precipitado (+)	NE	(+)	(+)
FEHLING (Azúcares reductores)	Color rojo o precipitado rojo (+)	NE	(+)	(-)
CLORURO FÉRRICO (Fenoles - Taninos)	Color rojo vino, verde intenso o azul (+)	NE	(+)	(+)
ESPUMA (Saponinas)	Presencia de espuma por más de 2 minutos (+)	NE	(+)	(+)
NINHIDRINA (Aminoácidos libres o aminas)	Azul violáceo (+)	NE	(-)	(+)
BORNTRAGER (Quinonas)	Rosado (++) Rojo (+++)	NE	(-)	(+)
SHINODA (Flavonoides)	Amarillo, Naranja o Rojo (+)	NE	(+)	(+)

ANTOCIANINAS (Secuencia de grupos de flavonoides)	Rojo (++) Marrón (+++)	NE	(-)	(+)
MUCÍLAGOS	Consistencia gelatinosa (+)	NE	(-)	(-)
PRINCIPIOS AMARGOS Y ASTRINGENTES	Sabor amargo (+)	NE	(+)	(+)

INTERPRETACIÓN: Negativo (-), Baja evidencia (+), Evidencia media (++) , Alta evidencia (+++), NE (no se realiza el ensayo)

Realizado por: Chimbo K., 2023.

Los componentes identificados en los extractos etéreo, alcohólico y acuoso de la especie vegetal *Achillea taygeta* fueron aceites, lactonas sesquiterpénicas, cumarinas, alcaloides, triterpenos y esteroides. El extracto alcohólico dio resultado positivo a catequinas, azúcares reductores, fenoles, taninos, saponinas, flavonoides y principios amargos. En el extracto acuoso se encuentran catequinas, fenoles, taninos, saponinas, aminoácidos libres, quinonas, flavonoides, secuencias de grupos flavonoides y principios amargos.

Mena Palacios, Silva López y Medina 2020 describe que el alcanfor, monoterpeno característico por brindar olor a los aceites esenciales, borneol, un monoterpenol con acción antiséptica y 1,8-cineol monoterpeno cíclico de acción antibacteriana son los componentes con mayor proporción en esta especie vegetal.

El 1,8-cineol en dilución con DMSO al 5% y su actividad en conjunto con CHX en concentraciones desde 0,5 hasta 4% fue investigada por Simsek & Duman, 2017, indicando que su mecanismo de acción resulta similar actuando sobre la membrana plasmática, siendo la principal razón de la interacción sinérgica entre ambos, esta interacción lleva a un aumento en la eficacia antimicrobiana frente a bacterias gram positivas y gram negativas, siempre y cuando la combinación no incluya solventes tóxicos.

4.2.2 Tamizaje fitoquímico de hojas de *Achillea holosericea*

Tabla 4-5: Resultados del tamizaje fitoquímico de la especie *Achillea holosericea*.

<i>Determinación de metabolitos</i>	<i>Indicadores</i>	<i>Tipo de extracto</i>		
		<i>Etéreo</i>	<i>Alcohólico</i>	<i>Acuoso</i>
SUDÁN (Aceites - Grasas)	Color rojo (+)	(+)	(+)	(+)
BALJET (Lactonas - Cumarinas)	Color rojo (++) Precipitado rojo (+++)	(+++)	(++)	(++)
DRAGENDORFF (Alcaloides)	Opalescencia (+)	(++)	(++)	(++)
WAGNER (Alcaloides)	Turbidez definida (++) Precipitado (+++)	(+++)	(++)	(++)
MAYER (Alcaloides)		(+++)	(++)	(++)
LIEBERMANN BURCHARD (Triterpenos - Esteroides)	Rosado – Azul (+) Verde intenso (++) Verde oscuro – Negro (+++)	(+++)	(++)	(++)
CATEQUINAS	Mancha verde carmelita (+)	NE	(+)	(+)
RESINAS	Precipitado (+)	NE	(-)	(-)
FEHLING (Azúcares reductores)	Color rojo o precipitado rojo (+)	NE	(+)	(+)
CLORURO FÉRRICO (Fenoles - Taninos)	Color rojo vino, verde intenso o azul (+)	NE	(+)	(+)
ESPUMA (Saponinas)	Presencia de espuma por más de 2 minutos	NE	(+)	(+)
NINHIDRINA (Aminoácidos libres o aminos)	Azul violáceo (+)	NE	(-)	(+)
BORNTRAGER	Rosado (++) Rojo (+++)	NE	(-)	(+)

<i>(Quinonas)</i>				
SHINODA	Amarillo, Naranja o Rojo (+)	NE	(+)	(+)
<i>(Flavonoides)</i>				
ANTOCIANINAS	Rojo (++) Marrón (+++)	NE	(-)	(+)
<i>(Secuencia de grupos de flavonoides)</i>				
MUCÍLAGOS	Consistencia gelatinosa (+)	NE	(-)	(-)
PRINCIPIOS AMARGOS Y ASTRINGENTES	Sabor amargo (+)	NE	(+)	(+)

INTERPRETACIÓN: Negativo (-), Baja evidencia (+), Evidencia media (++) , Alta evidencia (+++), NE (no se realiza el ensayo)

Realizado por: Chimbo K., 2023.

Los componentes identificados en los extractos etéreo, alcohólico y acuoso de la especie vegetal *Achillea holosericea* fueron aceites, lactonas, cumarinas, alcaloides, triterpenos y esteroides. El extracto alcohólico dio positivo a catequinas, azúcares reductores, fenoles, taninos, saponinas, flavonoides y principios amargos mientras que en el extracto acuoso los análisis dieron positivo para catequinas, fenoles, taninos, saponinas, aminoácidos libres, quinonas, flavonoides, secuencias de grupos flavonoides y principios amargos.

Al-Shuneigat, Jehad M et al. 2020 menciona que, en esta especie vegetal predominan los monoterpenos oxigenados, entre ellos con un 70,22% se encuentran el sabineno, ascaridol, alfa-terpineno, p-cineno y con el 27,99% hidrocarburos monoterpénicos. La actividad antibacteriana puede deberse a estos compuestos o su combinación.

Sabineno, es el componente con mayor presencia en el aceite esencial, según la investigación de Hidalgo et al. 2012 muestra zonas de inhibición significativas frente a bacterias gram positivas, con un mecanismo de acción sin definir. Sin embargo, al ser un monoterpeno oxigenado actúa sobre la membrana bacteriana externa incrementando la permeabilidad, conduciendo a una pérdida de iones y a la muerte celular.

4.2.3 Tamizaje fitoquímico de hojas de *Tanacetum vulgare*

Tabla 4-6: Resultados del tamizaje fitoquímico de la especie *Tanacetum vulgare*.

<i>Determinación de metabolitos</i>	<i>Indicadores</i>	<i>Tipo de extracto</i>		
		<i>Etéreo</i>	<i>Alcohólico</i>	<i>Acuoso</i>
SUDÁN (Aceites - Grasas)	Color rojo (+)	(+)	(+)	(+)
BALJET (Lactonas - Cumarinas)	Color rojo (++) Precipitado rojo (+++)	(+++)	(++)	(++)
DRAGENDORFF (Alcaloides)	Opalescencia (+)	(+++)	(++)	(++)
WAGNER (Alcaloides)	Turbidez definida (++) Precipitado (+++)	(++)	(++)	(++)
MAYER (Alcaloides)		(++)	(++)	(++)
LIEBERMANN BURCHARD (Triterpenos - Esteroides)	Rosado – Azul (+) Verde intenso (++) Verde oscuro – Negro (+++)	(+++)	(++)	(++)
CATEQUINAS	Mancha verde carmelita (+)	NE	(+)	(+)
RESINAS	Precipitado (+)	NE	(-)	(-)
FEHLING (Azúcares reductores)	Color rojo o precipitado rojo (+)	NE	(+)	(+)
CLORURO FÉRRICO (Fenoles - Taninos)	Color rojo vino, verde intenso o azul (+)	NE	(+)	(+)
ESPUMA (Saponinas)	Presencia de espuma por más de 2 minutos	NE	(-)	(+)
NINHIDRINA (Aminoácidos libres o aminos)	Azul violáceo (+)	NE	(-)	(+)
BORNTRAGER	Rosado (++) Rojo (+++)	NE	(-)	(+)

<i>(Quinonas)</i>				
SHINODA	Amarillo, Naranja o Rojo (+)	NE	(-)	(-)
<i>(Flavonoides)</i>				
ANTOCIANINAS	Rojo (++) Marrón (+++)	NE	(-)	(+)
<i>(Secuencia de grupos de flavonoides)</i>				
MUCÍLAGOS	Consistencia gelatinosa (+)	NE	(-)	(-)
PRINCIPIOS AMARGOS Y ASTRINGENTES	Sabor amargo (+)	NE	(+)	(+)

INTERPRETACIÓN: Negativo (-), Baja evidencia (+), Evidencia media (++) , Alta evidencia (+++), NE (no se realiza el ensayo)

Realizado por: Chimbo K., 2023.

Los componentes identificados en los extractos etéreo, alcohólico y acuoso de la especie vegetal *Tanacetum vulgare* fueron aceites, lactonas, cumarinas, alcaloides, triterpenos y esteroides. El extracto alcohólico dio positivo a catequinas, azúcares reductores, fenoles, taninos y principios amargos mientras que, en el extracto acuoso para catequinas, azúcares reductores, fenoles, taninos, saponinas, aminoácidos libres, quinonas, secuencias de grupos flavonoides y principios amargos.

Nurzyńska, Sałata y Kniaziewicz 2022, describe la presencia de beta-pineno un monoterpeno con acción antibacteriana, beta-tuyona monoterpeno oxigenado de acción antibacterial, sabineno, monoterpeno bicíclico de acción antiinflamatoria, además de compuestos como taninos, alcaloides, flavonoides y ácidos fenólicos.

La tuyona al ser un componente mayoritario en el aceite esencial de esta especie y al mismo tiempo, según González Vázquez 2009 una sustancia tóxica en combinación con sus isómeros alfa y beta, es necesario tener cuidado al usarse puro o en concentraciones elevadas durante el embarazo y la lactancia, pues llega a producir sensación de calor, vértigo, calambres e incluso taquicardia.

4.3 Antibiograma

Las tablas 4-7 hasta la 4-16 reflejan los promedios obtenidos de tres repeticiones de las pruebas de sensibilidad microbiana frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

4.3.1 Prueba de sensibilidad de Dimetilsulfóxido (DMSO) y Clorhexidina (CHX) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25275 a diferentes concentraciones

Tabla 4-7: Halos de inhibición de las diluciones de DMSO frente a *Streptococcus mutans*

<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	Promedio de las repeticiones (%)				
	C(-)	1	5	10	20
Medida del halo (mm)	6	6	6	6	6
Grado de sensibilidad	NA	NA	NA	NA	NA

Interpretación: Control positivo C(+), Control negativo C (-), Concentración total CT, sensible (S), Medianamente sensible (I), Resistente (R), No aplica (NA).

Realizado por: Chimbo K., 2023.

Pielesz et al. 2018 menciona que el dimetilsulfóxido puede aumentar la fluidez y alterar las propiedades de la membrana cambiando el alcance de penetración de los compuestos químicos en las membranas biológicas, además de ser un solvente eficaz en compuestos insolubles en agua, usado frecuentemente en estudios biológicos y como vehículo en terapias farmacológicas.

Se evaluó la actividad antimicrobiana del DMSO al 1, 5, 10 y 20% obteniendo como resultado ausencia de actividad frente a *Streptococcus mutans*, la medida de halo reportada en la tabla 7-4 representa el diámetro del disco en blanco en mm. Los aceites esenciales fueron diluidos con DMSO al 10 y 20% debido a que presentaron una solución homogénea. Se usó la menor concentración para las diluciones, garantizando que el grado de inhibición obtenido no se afecte por el DMSO.

Tabla 4-8: Halos de inhibición de las diluciones de la solución acuosa de clorhexidina al 2%

<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	Promedio de las repeticiones (%)				
	C(-)	0,05	0,12	0,2	2
Medida del halo (mm)	0	15	17	19	29
Grado de sensibilidad	NA	S	S	S	S

Interpretación: Control positivo C(+), Control negativo C (-), Concentración total CT, sensible (S), Medianamente sensible (I), Resistente (R), No aplica (NA).

Realizado por: Chimbo K., 2023.

Las diluciones de clorhexidina al 2% se hicieron en base a las concentraciones presentes en formulaciones bucales (enjuagues y dentífricos), para posteriormente reducir la cantidad de antibiótico. A la medida resultante de los halos de inhibición se restó el diámetro del disco en blanco (6 mm) obteniendo las medidas indicadas en la tabla 4-8.

Utria Hoyos et al. 2018 menciona que la clorhexidina es efectiva frente a bacterias gram positivas, gram negativas, mohos, virus, aerobios y anaerobios facultativos, actuando como bactericida en concentraciones hasta 0,12% y a mayor dilución como bacteriostático, interactúa reversiblemente con los grupos sulfato, fosfato y carboxilo de los tejidos blandos y duros liberándose prolongadamente durante 12 horas, se une a la membrana celular bacteriana e incrementa su permeabilidad llevando a la muerte celular. Además, ha demostrado ser uno de los mejores agentes inhibidores de la placa, recomendado por odontólogos en enjuagues bucales a concentraciones del 0,1 – 0,2%.

4.3.2 Antibiograma de Clorhexidina 2% y los aceites esenciales en dilución.

Las tablas 4-9, 4-10 y 4-11 muestran la medida del halo de inhibición de los aceites esenciales estudiados y sus diluciones frente a *Streptococcus mutans*.

Tabla 4-9: Resultados del antibiograma, aceites esenciales en disolución de la especie *Achillea taygeta*.

<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	Promedio de las repeticiones					
	C(-)	1:1000	1:100	1:10	CT	C(+)
Medida del halo (mm)	0	1,67	3	6,33	11,67	29
Grado de sensibilidad	NA	R	R	R	S	S

Interpretación: Control positivo C(+), Control negativo C (-), Concentración total CT, sensible (S), Medianamente sensible (I), Resistente (R), No aplica (NA).

Realizado por: Chimbo K., 2023.

Tabla 4-10: Resultados del antibiograma, aceites esenciales en disolución de la especie *Achillea holosericea*.

<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	Promedio de las repeticiones					
	C(-)	1:1000	1:100	1:10	CT	C(+)

Medida del halo (mm)	0	1	2	3,67	11	29
Grado de sensibilidad	NA	R	R	R	S	S

Interpretación: Control positivo C(+), Control negativo C (-), Concentración total CT, sensible (S), Medianamente sensible (I), Resistente (R), No aplica (NA).

Realizado por: Chimbo K., 2023.

Tabla 4-11: Resultados del antibiograma, aceites esenciales en disolución de la especie *Tanacetum vulgare*.

<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	<i>Promedio de las repeticiones</i>					
	C(-)	1:1000	1:100	1:10	CT	C(+)
Medida del halo (mm)	0	1	2,67	4	11	29
Grado de sensibilidad	NA	R	R	R	S	S

Interpretación: Control positivo C(+), Control negativo C (-), Concentración total CT, sensible (S), Medianamente sensible (I), Resistente (R), No aplica (NA).

Realizado por: Chimbo K., 2023.

La actividad antibacteriana se evaluó en base al grado de sensibilidad del aceite esencial (AE) en el antibiograma, tomando como referencia Sensible ≥ 12 mm, Medianamente sensible 10-11 mm y Resistente ≤ 9 mm, valores establecidos para la clorhexidina al 2% frente a *Streptococcus mutans*.

Streptococcus mutans resultó ser sensible frente a la concentración total del aceite esencial y resistente a las concentraciones 1:10, 1:100 y 1:1000. El control negativo, dimetilsulfóxido (DMSO) no tuvo halo de inhibición mientras que el control positivo mantuvo un halo de inhibición de 29 mm para las tres repeticiones.

La actividad antibacteriana comprobada de los aceites esenciales frente a *Streptococcus mutans* según Aguilar et al. 2018, se debe a la presencia de terpenos y fenoles como el timol, eucaliptol, mentona, carvacrol y citral, quienes demostraron tener efecto inhibitorio sobre el crecimiento de esta bacteria anaerobia y han sido aplicados en formulaciones de salud bucal.

4.3.3 Antibiograma en combinación de los aceites esenciales y clorhexidina al 2%

Tabla 4-12: Combinación del aceite de *Achillea taygeta* y el control positivo.

Promedio de las repeticiones

<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	C(-)	1:10	CT	C(+)
Medida del halo (mm)	0	28,67	29	29
Grado de sensibilidad	NA	S	S	S

Interpretación: Control positivo C(+), Control negativo C (-), Concentración total CT, sensible (S), Medianamente sensible (I), Resistente (R), No aplica (NA).

Realizado por: Chimbo K., 2023.

Tabla 4-13: Combinación del aceite de *Achillea holosericea* y el control positivo.

<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	<i>Promedio de las repeticiones</i>			
	C(-)	1:10	CT	C(+)
Medida del halo (mm)	0	28,33	29	29
Grado de sensibilidad	NA	S	S	S

Interpretación: Control positivo C(+), Control negativo C (-), Concentración total CT, sensible (S), Medianamente sensible (I), Resistente (R), No aplica (NA).

Realizado por: Chimbo K., 2023.

Tabla 4-14: Combinación del aceite de *Tanacetum vulgare* y el control positivo.

<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	<i>Promedio de las repeticiones</i>			
	C(-)	1:10	CT	C(+)
Medida del halo (mm)	0	28	28	29
Grado de sensibilidad	NA	S	S	S

Interpretación: Control positivo C(+), Control negativo C (-), Concentración total CT, sensible (S), Medianamente sensible (I), Resistente (R), No aplica (NA).

Realizado por: Chimbo K., 2023.

Al evaluar la actividad antibacteriana de las combinaciones del aceite esencial junto al C(+), no se puede determinar si la medida del halo de inhibición se debe a la actividad de la clorhexidina que mantuvo una medida constante de 29 mm o si el aceite esencial tuvo algún tipo de acción antibacteriana, puesto que los halos de las combinaciones tuvieron una medida promedio de 28,5 mm. Al tener resultados muy similares es necesario evaluar una nueva combinación del AE junto al control positivo a diferentes disoluciones.

Enrile & Santos, 2005 mencionan que la clorhexidina y los aceites esenciales mantienen un mecanismo de acción similar pues actúan sobre la membrana bacteriana, llegan a penetrar el

biofilm de la placa in vivo para eliminar las bacterias, contribuyendo a su disminución en zonas de difícil acceso. Además de controlar y reducir la gingivitis poseen excelentes características de tolerancia y seguridad.

4.3.4 *Antibiograma en combinación de los aceites esenciales y la solución de clorhexidina a distintas concentraciones*

Tabla 4-15: Resultados antibiograma, combinación del aceite de *Achillea taygeta* y las soluciones del control positivo.

<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	<i>Promedio de las repeticiones</i>			
	C(-)	0,05	0,12	0,2
Medida del halo (mm)	0	22	24	26
Grado de sensibilidad	NA	S	S	S

Interpretación: Control negativo C (-), sensible (S), Medianamente sensible (I), Resistente (R), No aplica (NA).

Realizado por: Chimbo K., 2023.

La evaluación de la actividad antibacteriana de las combinaciones probadas dio como resultado una potenciación promedio de 5,3 mm frente a *Streptococcus mutans*, siendo sensible frente a todas las combinaciones. El control negativo, DMSO no tuvo halo de inhibición mientras que el control positivo mantuvo un halo de inhibición constante de 29 mm para las tres repeticiones.

Al-Shuneigat, Jehad M et al. 2020 investigó el mecanismo de acción de este aceite esencial mediante ensayos de integridad de la membrana celular y fuga de iones potasio, comprobando que al unirse el aceite y la membrana existe un fuerte aumento de la permeabilidad permitiendo la entrada de materia externa, aumentando la densidad óptica e incluso provocando la fuga de iones potasio y material intracelular como ácidos nucleicos. Además, menciona que existe mayor actividad frente a bacterias gram positivas atribuido a su pared celular de peptidoglicano permitiendo con mayor facilidad el paso a componentes lipofílicos.

Tabla 4-16: Resultados antibiograma, combinación del aceite de *Achillea holosericea* y las soluciones del control positivo.

<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	<i>Promedio de las repeticiones</i>			
	C(-)	0,05	0,12	0,2

Medida del halo (mm)	0	19	22	24
Grado de sensibilidad	NA	S	S	S

Interpretación: Control negativo C (-), sensible (S), Medianamente sensible (I), Resistente (R), No aplica (NA).

Realizado por: Chimbo K., 2023.

Las combinaciones probadas del aceite esencial y el control positivo dieron como resultado una potenciación promedio de 4,6 mm siendo todas sensibles frente a *Streptococcus mutans* sin embargo, esta especie resultó potenciar en menor grado la solución de clorhexidina.

El mecanismo de acción de los aceites esenciales no ha sido definido y tampoco se puede atribuir a un componente, pues viene dado por una serie de reacciones sin embargo, Al-Shuneigat, Jehad et al. 2020 ha estudiado este aceite esencial informando que el efecto sinérgico entre los componentes resulta en la unión del aceite a la membrana bacteriana provocando una pérdida de la integridad y un aumento de la permeabilidad, dando lugar a la fuga de iones potasio además, el terpineno presente en el aceite despolariza la membrana conduciendo a la inhibición de proteínas, ADN y ARN.

Tabla 4-17: Resultados antibiograma, combinación del aceite de *Tanacetum vulgare* y las soluciones del control positivo.

<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	<i>Promedio de las repeticiones</i>			
	C(-)	0,05	0,12	0,2
Medida del halo (mm)	0	19	21	23
Grado de sensibilidad	NA	S	S	S

Interpretación: Control negativo C (-), sensible (S), Medianamente sensible (I), Resistente (R), No aplica (NA).

Realizado por: Chimbo K., 2023.

El aceite esencial de esta especie en combinación con las diluciones de clorhexidina dio como resultado halos sensibles frente a *Streptococcus mutans* y una potenciación promedio de 4 mm tomando como comparación el halo de las soluciones de clorhexidina.

Roman et al. 2023 menciona que el mecanismo de acción de esta especie está asociado a los terpenos, con una presencia del 99% en los aceites esenciales. Se conoce que, los monoterpenos se unen a la membrana y posteriormente penetran esta estructura, aumentando la fluidez y permeabilidad e

induciendo alteraciones en la cadena respiratoria de la bacteria. Además, investigó la combinación del AE de *Tanacetum vulgare* junto a varios antibióticos como beta lactámicos, aminoglucósidos y quinolonas frente a bacterias multirresistentes deduciendo que estas combinaciones recuperan las propiedades antibacterianas de los antibióticos atribuyéndolo a la compleja acción sinérgica de los mecanismos de acción. Entre los antibióticos usados están Cefepima, Amoxicilina + Ácido Clavulánico y Tobramicina en combinación con el aceite esencial frente a varias cepas como *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae* demostrando en cada combinación que los antibióticos recuperaron su actividad como inhibidores bacterianos.

4.4 Comparación de las combinaciones de los aceites esenciales y las diluciones del control positivo

Tabla 4-18: *Achillea taygeta* + C(+)

<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	<i>Medida promedio de los halos (mm)</i>			
	C(-)	0,05	0,12	0,2
Clorhexidina	0	15	17	19
Combinación	0	22	24	26

Interpretación: Control negativo C (-).

Realizado por: Chimbo K., 2023.

Tabla 4-19: *Achillea holosericea* + C(+)

<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	<i>Medida promedio de los halos (mm)</i>			
	C(-)	0,05	0,12	0,2
Clorhexidina	0	15	17	19
Combinación	0	19	22	24

Interpretación: Control negativo C (-).

Realizado por: Chimbo K., 2023.

Tabla 4-20: *Tanacetum vulgare* + C(+)

<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	<i>Medida promedio de los halos (mm)</i>			
	C(-)	0,05	0,12	0,2
Clorhexidina	0	15	17	19
Combinación	0	19	21	23

Interpretación: Control negativo C (-).

Realizado por: Chimbo K., 2023.

Las tablas 4-18, 4-19 y 4-20 muestran las medidas promedio de los halos de inhibición tanto de los controles positivos (Clorhexidina) como de la combinación de los aceites esenciales junto al control positivo. En cada tabla se puede identificar que las combinaciones probadas tuvieron un halo de inhibición más amplio en comparación con la clorhexidina, demostrando que puede existir sinergia entre los aceites esenciales y el antimicrobiano, correlacionando esta sinergia con los mecanismos de acción similares.

4.5 Análisis de la sinergia entre los mecanismos de acción de los aceites esenciales y la clorhexidina frente a *Streptococcus mutans*

Al no haberse definido el mecanismo de acción de cada uno de los aceites, el análisis se enfocará en el mecanismo general de un aceite esencial en base a los terpenos quienes tienen mayor proporción en los aceites esenciales.

Una vez probadas las diluciones, se definió que el orden para obtener una solución homogénea es iniciar con la combinación del DMSO 10%, AE y CHX en ese orden, pues al diluir el AE con el DMSO permite que la unión posterior con la CHX en solución acuosa se acople homogéneamente.

El posible mecanismo mediante el cual actúa esta combinación es al unirse la CHX (catiónica) a la mucina (aniónica) que rodea la mucosa salival mediante la unión a los grupos carboxilo, para ser liberada gradualmente (8 a 12 horas actuando como bacteriostático) gracias a la segregación de iones calcio por las glándulas salivales, al actuar desplazando el calcio de los grupos fosfato de la placa impide que la bacteria se una a la película evitando su colonización.

Mientras tanto la cadena de ácidos grasos del aceite esencial mediante interacciones hidrofóbicas se une a los fosfolípidos de la membrana bacteriana, desorganizando su estructura y aumentando la permeabilidad. Una vez se libera la clorhexidina y la membrana se haya vuelto más permeable gracias al aceite esencial, la molécula de clorhexidina que tiene afinidad por la carga negativa de la superficie bacteriana, se adhiere a ella y absorbe de forma específica compuestos con fosfato alterando la integridad de la membrana y su permeabilidad, precipitando el citoplasma, inhibiendo la utilización de oxígeno, disminuyendo los niveles de ATP y causando la muerte celular.

CONCLUSIONES

- El tamizaje fitoquímico realizado a las especies *Achillea Taygeta*, *Achillea Holosericea* y *Tanacetum Vulgare* confirmó la presencia de metabolitos secundarios en el extracto etéreo, tales como: compuestos grasos, lactonas sesquiterpénicas, cumarinas, alcaloides, triterpenos y esteroides. Mientras que, en el extracto alcohólico y acuoso se identificó además de los compuestos ya mencionados catequinas, azúcares reductores, fenoles, taninos, principios amargos, saponinas, aminoácidos libres, flavonoides y quinonas. Atribuyendo la actividad antimicrobiana a varios de estos metabolitos o la combinación de los mismos.
- Se evaluó la actividad antibacteriana de las tres especies vegetales mediante el método de difusión de discos, concluyendo que todos los aceites esenciales presentaron actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* mientras que, las diluciones 1:1000; 1:100 y 1:10 presentaron actividad antibacteriana poco significativa.
- La combinación de los aceites esenciales y clorhexidina dio como resultado halos de inhibición muy similares, por ellos se probó la combinación de los aceites esenciales y diluciones de clorhexidina, dando como resultado de todas las combinaciones un halo de inhibición mayor a comparación de los controles positivos frente a *Streptococcus mutans* lo que supone la posible sinergia entre mecanismos.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda un estudio más profundo del sinergismo entre los mecanismos de acción de los aceites esenciales y los antibióticos con el fin de potenciar la actividad antibacteriana.
- Se recomienda la identificación y cuantificación de los metabolitos secundarios para determinar cuáles son los compuestos responsables de la actividad antibacteriana.
- Se recomienda la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bacteriana (CMB).
- Se recomienda probar las combinaciones de aceites esenciales y antibióticos frente a una variedad de cepas cariogénicas e incluso frente a otras patologías de interés.

GLOSARIO

Caries dental: Patología multifactorial considerada una infección bacteriana que se caracteriza por la destrucción de los tejidos calcificados del diente, se manifiesta con lesiones progresivas pasando por la inflamación, necrosis y pérdida dentaria (Catalá Pizarro & Lillo, 2014, p. 147).

GEHA: La gingivoestomatitis herpética aguda es una infección de la cavidad bucal producida por el virus del herpes simple tipo I, aparece con mayor frecuencia en lactantes y adultos, causa vesículas dolorosas en labios, encías, mucosa, lengua y paladar con una duración de 10 a 14 días (Baile u. a., 2010, p. 5).

GUNA: La gingivitis ulcerativa necrotizante aguda es una infección que manifiesta dolor en las encías, necrosis en papilas interdentes, sangrado espontáneo y ataque al estado general, se caracteriza por un color blanquecino que es fácil detectar y el principal factor predisponente es la malnutrición (Porrás & Zerón, 2013, p. 8).

Monoterpenos Oxigenados: Compuestos terpénicos a quienes se les atribuye la actividad antibacteriana, formados por 10 unidades de carbono que puede ser monocíclico, acíclico, bicíclico y en su estructura química cuenta con oxígeno (López 2004, p. 89).

BIBLIOGRAFÍA

- AĆIMOVIĆ, M. y PUVAČA, N.**, 2020. Tanacetum vulgare L.-A Systematic Review. *Technology and Engineering Management J Agron Technol Eng Manag* [en línea], vol. 2020, no. 3, [consulta: 3 febrero 2024]. Disponible en: [https://www.fimek.edu.rs/downloads/casopisi/jatem/issue/v3_3/01-Acimovic_and_Puvaca_3\(3\)2020_416-422.pdf](https://www.fimek.edu.rs/downloads/casopisi/jatem/issue/v3_3/01-Acimovic_and_Puvaca_3(3)2020_416-422.pdf).
- AGUILAR, E., AGUILAR, K., GARAY, B., MAMANI, V. y QUISPE, M.**, 2018. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA FRENTE A *Streptococcus mutans* DE ACEITES ESENCIALES DE CINCO PLANTAS ALTO ANDINAS. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, vol. 35, no. 1, DOI 10.1371/journal.pntd.0000615.
- ALBRIGI IN HERBA**, 2020. ALBRIGI LUIGI srl COSTRUZIONI IN ACCIAIO INOX. [en línea]. S.l.: Disponible en: www.albrigiluigistore.com.
- AL-SHUNEIGAT, Jehad, AL-SARAYREH, S., AL-SARAIHEH, Y. y AL-QUDAH, M.**, 2020. Effect of *Achillea santolina* essential oil on bacterial biofilm and its mode of action. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, vol. 33, no. 2, ISSN 2084980X. DOI 10.2478/cipms-2020-0016.
- AL-SHUNEIGAT, Jehad M, AL-SARAYREH, S.A., AL-QUDAH, M.A. y AL-SARAIHEH, Y.M.**, 2020. Antibacterial and antibiofilm activity of essential oil of *Achillea biebersteinii* and its mode of action [Actividad antibacteriana y anti-biopelícula del aceite esencial de *Achillea biebersteinii* y su modo de acción]. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research* [en línea], vol. 8, no. 2, ISSN 0719-4250. Disponible en: <http://jppres.com/jppres>.
- AL-SHUNEIGAT, Jehad M, AL-SARAYREH, S.A., AL-QUDAH, M.A. y AL-SARAIHEH, Y.M.**, 2020. Antibacterial and antibiofilm activity of essential oil of *Achillea biebersteinii* and its mode of action [Actividad antibacteriana y anti-biopelícula del aceite esencial de *Achillea biebersteinii* y su modo de acción]. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research* [en línea], vol. 8, no. 2, ISSN 0719-4250. Disponible en: <http://jppres.com/jppres>.
- ASQUINO, N., VICTORIA, G.M., MAGDALENA, M., ERNESTO, A., ROSSY, B. y ALEXANDRO, L.**, 2016. Aceites Esenciales: Una opción quimioterapéutica en Periodoncia Essential-oils: a Chemotherapeutic Option in Periodontics. . Montevideo:

- BAILE, Y., LAYVA, Y., RIBEAUX, A. y BLANCO, M.,** 2010. GINGIVOESTOMATITIS HERPÉTICA AGUDA EN INFANTES. *Revista Información Científica*, vol. 67, no. 3,
- BERMÚDEZ DEL SOL, A., PAZMIÑO, A. y NEIRA, J.,** 2022. medicinales por la población del Cantón Salcedo, Cotopaxi, Ecuador Traditional use of medicinal plants by the population of Canton. *AVFT* [en línea], vol. 41, no. 3, ISSN 2610-7988. DOI 10.5281/zenodo.6743038. Disponible en: <http://doi.org/10.5281/zenodo.6743038>.
- BERNAL, M. y GUZMAN, M.,** 1984. EL ANTIBIOGRAMA DE DISCOS. NORMALIZACION DE LA TECNICA DE KIRBY-BAUER. *BIOMEDICA*, vol. 4, no. 3, 4,
- CANTÓN, R.,** 2010. Interpretive reading of the antibiogram: A clinical necessity. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, vol. 28, no. 6, ISSN 15781852. DOI 10.1016/j.eimc.2010.01.001.
- CASTAÑEDA, M.I.L. y SOTELO, C.G.M.,** 2023. Oral health in Latin America: A view from public policies. *Salud, Ciencia y Tecnología*, vol. 3, ISSN 27969711. DOI 10.56294/saludcyt2023340.
- CASTAÑEDA, M.I.L. y SOTELO, C.G.M.,** 2023. Oral health in Latin America: A view from public policies. *Salud, Ciencia y Tecnología*, vol. 3, ISSN 27969711. DOI 10.56294/saludcyt2023340.
- CATALÁ PIZARRO, M. y LILLO, O.C.,** 2014. La caries dental: una enfermedad que se puede prevenir Puntos clave. *An Pediatr Contin*, vol. 12, no. 3,
- CHECALLA, L. y SÁNCHEZ, M.,** 2021. Caracterización Química y Actividad Antibacteriana in vitro de un Extracto Etanólico de Propóleo Peruano Frente a Streptococcus mutans Chemical Characterization and in vitro Antibacterial Activity of a Peruvian Propolis Ethanolic Extract Against Streptococcus mutans. *Int. J. Odontostomat*, vol. 15, no. 1,
- COVA, O., PAREDES, L., PEREA, A., ROJAS, K. y HENCKELL, C.,** 2020. ANTISÉPTICOS ORALES: CLORHEXIDINA, FLÚOR Y TRICLOSÁN ORAL

ANTISEPTICS: CHLORHEXIDINE, FLUORINE AND TRICLOSAN. *Rev. Salud & Vida Sipanense*, vol. 7, no. 1,

CRUZ OLIVO, E.A., RAMIREZ ESCOBAR, J.H. y CONTRERAS RENGIFO, A., 2014. La moxifloxacin como coadyuvante en el tratamiento de las periodontitis. *Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral*, vol. 7, no. 3, ISSN 07185391. DOI 10.1016/j.piro.2014.06.001.

ENRILE, F. y SANTOS, A., 2005. Colutorios para el control de placa y gingivitis basados en la evidencia científica. *RCOE*, vol. 10, no. 4,

FAZAL, H., AHMAD, N. y AJAB KHAN, M., 2011. PHYSICO-CHEMICAL, PHYTOCHEMICAL EVALUATION AND DPPH-SCAVENGING ANTIOXIDANT POTENTIAL IN MEDICINAL PLANTS USED FOR HERBAL FORMULATION IN PAKISTAN. *Pakistan Journal of Botany*, vol. 43,

GALLEGOS ZURITA, M., 2016. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. *An Fac Med*, vol. 77, no. 4, ISSN 1025-5583. DOI 10.15381/anales.v77i4.12647.

GARCÍA, C., GARCÍA, R. y SAN JUAN, M., 2021. Clasificación de las condiciones y enfermedades periodontales y perimplantares desde una perspectiva evolutiva. *Medisur* [en línea], vol. 19, no. 4, Disponible en: <http://www.medisur.sld.cu/index.php/medisur/article/view/5086>.

GEVRENOVA, R., ZHELEVA DIMITROVA, D., BALABANOVA, V., VOYNIKOV, Y., IBRAHIME SINAN, K., FAWZI MAHOMOODALLY, M. y ZENGIN, G., 2020. Fitoquímica integrada, potencial biofuncional y análisis multivariado de *Tanacetum macrophyllum* (Waldst. & Kit.) Sch.Bip. y *Telekia speciosa* (Schreb.) Baumg. (Asteráceas). *Elsevier*, vol. 155, no. 1,

GONZÁLEZ VÁZQUEZ, J., 2009. Interés farmacéutico de la salvia officinalis y de la euphrasia officinalis. . S.l.:

GUTIÉRREZ DURÁN MARÍA y GONZÁLES DÁVALOS EDUARDO, 2021. Estudio de los parámetros de calidad de la especie vegetal *Urtica urens* L. recolectada en la provincia

Ingavi del Departamento de La Paz. *Revista CON-CIENCIA*, vol. 9, no. 2, DOI DOI: <https://doi.org/10.53287/roct1421ti19p>.

HIDALGO, M., MICELI, F., CANSECO, L., DENDOOVEN, L., LÓPEZ, M., SÁNCHEZ, S., BARRADAS, O. y ABUD-ARCHILA, M., 2012. Composición química y actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de hojas de *Bursera graveolens* y *Taxodium mucronatum* de Chiapas, México Chemical composition and antimicrobial activity of *Bursera graveolens* and *Taxodium mucronatum* essential oils from Chiapas, México. *Gayana Botánica*, vol. 69,

KUMAR, P., SHRUTHI, R., BINDU, I. y RAGHAVENDRA, P., 2021. Pharmacognosy, phytochemistry, and molecular studies of an important medicinal herb *Achillea millefolium* L. *AYU (An international quarterly journal of research in Ayurveda)*, vol. 42, no. 2, ISSN 0974-8520. DOI 10.4103/ayu.ayu_401_21.

KUMAR, V. y TYAGI, D., 2013. Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils of Genus *Tanacetum*-a review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, vol. 2, no. 3, ISSN 2349-8234.

LÓPEZ, M.T., 2004. Los aceites esenciales Aplicaciones farmacológicas, cosméticas y alimentarias. *OFFARM*, vol. 23, no. 7,

MACHADO, T. y REYES, B., 2021. *Streptococcus mutans*, principal cariogénico de la cavidad bucal *Streptococcus Mutans*, main microorganism causing tooth decay in the oral cavity. *Revista Progaleno* [en línea], vol. 4, no. 3, ISSN 2707-9139. Disponible en: <https://orcid.org/0000-0003-2915-9341>.

MACÍAS LOZANO, H.G., LOZA MENENDEZ, R.E. y GUERRERO VARDELLY, D., 2019. Aplicación de la medicina natural y tradicional en odontología. *RECIAMUC*, vol. 3, no. 1, DOI 10.26820/reciamuc/3.(2).abril.2019.756-780.

MARÍN JARAMILLO, R. y DUQUE DUQUE, A., 2021. Condiciones modificadoras del riesgo de enfermedad periodontal: una revisión narrativa sobre la evidencia en américa latina. *CES Odontología*, vol. 34, no. 1, ISSN 0120-971X. DOI 10.21615/cesodon.34.1.8.

- MENA PALACIOS, C., SILVA LÓPEZ, B. y MEDINA, A.,** 2020. COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE LAMIACEAS, ASTERACEAS, VERVENACEAS: UNA REVISIÓN. *infoANALÍTICA*, vol. 8, no. 2, ISSN 2477-8788. DOI 10.26807/ia.vi.177.
- MIRANDA, M.,** 2002. *MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DROGAS Y EXTRACTOS*. Habana: Universidad de la Habana: Instituto de Farmacia y Alimentos. vol. 36.
- MOLINA, F., LÓPEZ DEL RINCÓN y AGROFORESTALES, E.,** 2016. Familia Compositae (Asteraceae): caracteres generales. . S.l.:
- MORALES, A., GARCÍA, A., SAAVEDRA, M., TORRES, G. y TORRES, E.,** 2011. Tamizaje fitoquímico de *Cassia uniflora* Mill Phytochemical screening of *Cassia uniflora* Mill. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* [en línea], vol. 16, no. 4, Disponible en: <http://scielo.sld.cu><http://scielo.sld.cu332>.
- MORENO, A. y GÓMEZ, J.,** 2012. Terapia antibiótica en odontología de práctica general. *REVISTA ADM*, vol. 69, no. 4,
- MUÑOZ, L.,** 2010. LA FAMILIA ASTERACEAE. *Desde el Herbario CICY* [en línea]. Yucatán: Disponible en: http://www.cicy.mx/sitios/desde_herbario/.
- MUÑOZ, L., SANTOS, T. y BEATO, T.,** 1999. PLANTAS MEDICINALES ESPAÑOLAS. ACHILLEA MILLEFOLIUM L. ASTERACEAE). (MILENRAMA) Spanish Medicinal Plants. *Achillea millefolium* L. (Milfoi). *Stud. Bot.*, vol. 18, ISSN 0214-3402.
- MUSTAFA, K.G., GANAI, B.A., AKBAR, S., DAR, M.Y. y MASOOD, A.,** 2012. β -Cell protective efficacy, hypoglycemic and hypolipidemic effects of extracts of *Achillea millifolium* in diabetic rats. *Chinese Journal of Natural Medicines*, vol. 10, no. 3, ISSN 18755364. DOI 10.3724/SP.J.1009.2012.00185.
- NURZYŃSKA-WIERDAK, R., SALATA, A. y KNIAZIEWICZ, M.,** 2022. Tansy (*Tanacetum vulgare* L.)—A Wild-Growing Aromatic Medicinal Plant with a Variable Essential Oil Composition. *Revista MDPI*, vol. 12, no. 2, ISSN 20734395. DOI 10.3390/agronomy12020277.

- OJEDA, J.C., OVIEDO, E. y SALAS, A.,** 2013. Streptococcus mutans and dental caries. *Revista CES Odontología*, vol. 26, no. 1,
- OMS,** 2022. La OMS destaca que el descuido de la salud bucodental afecta a casi la mitad de la población mundial. *OMS* [en línea]. [consulta: 28 octubre 2023]. 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#:~:text=Las%20enfermedades%20bucodentales%20m%C3%A1s%20frecuentes,a%202500%20millones%20de%20personas>.
- PALOMEQUE, P.,** 2018. DESIGUALDAD DE INGRESOS SOBRE LA POBLACIÓN ECONÓMICAMENTE ACTIVA Y SU INCIDENCIA SOBRE LA SALUD ORAL: REVISIÓN SITUACIONAL EN EL ECUADOR INEQUALITY OF INCOME ON THE ECONOMICALLY ACTIVE POPULATION AND ITS INCIDENCE ON ORAL HEALTH: SITUATIONAL REVIEW IN ECUADOR. *Revista pedagógica de la Universidad de Cienfuegos* [en línea], vol. 14, no. 61, Disponible en: <http://conrado.ucf.edu.cu/index.php/conrado>.
- PAREEK, A., SUTHAR, M., RATHORE, G.S. y BANSAL, V.,** 2011. Feverfew (*Tanacetum parthenium* L.): A systematic review. *Pharmacognosy Reviews*, vol. 5, no. 9, ISSN 09737847. DOI 10.4103/0973-7847.79105.
- PARISE VASCO, J.M., ZAMBRANO ACHIG, P., VITERI GARCÍA, A. y ARMAS VEGA, A.,** 2020. Estado de la salud bucal en el Ecuador. *Odontología Sanmarquina*, vol. 23, no. 3, ISSN 1560-9111. DOI 10.15381/os.v23i3.18133.
- PIELESZ, A., GAWŁOWSKI, A., BINIAŚ, D., BOBIŃSKI, R., KAWECKI, M., KLAMABARYŁA, A., KITALA, D., ŁABUŚ, W., GLIK, J. y PALUCH, J.,** 2018. The role of dimethyl sulfoxide (DMSO) in ex-vivo examination of human skin burn injury treatment. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 196, ISSN 13861425. DOI 10.1016/j.saa.2018.02.035.
- PORRAS, D. y ZERÓN, A.,** 2013. Gingivitis ulcerativa necrotizante Revisión y reporte de dos casos. *REVISTA MEXICANA DE PERIODONTOLOGÍA* [en línea], vol. IV, no. 1, Disponible en: www.medigraphic.org.mx.

- RAMÍREZ RAMÍREZ, V. M.**, 2006. *Estudio teórico de mecanismos de oxidación de interés en química atmosférica : reacciones de terpenos, isopreno, y productos derivados*. S.l.: s.n.
- RIVERO, A.O.**, 2020. Diversity of endemic species of asteraceae (Compositae) in the flora of Ecuador. *Collectanea Botanica*, vol. 39, no. 1, ISSN 19891067. DOI 10.3989/COLLECTBOT.2020.V39.001.
- ROMAN, H., NICULESCU, A.G., LAZĂR, V. y MITACHE, M.M.**, 2023. Antibacterial Efficiency of Tanacetum vulgare Essential Oil against ESKAPE Pathogens and Synergisms with Antibiotics. *Revista MDPI*, vol. 12, no. 11, ISSN 20796382. DOI 10.3390/antibiotics12111635.
- RUIZ, M., TERRONES, W., CUEVA, D., SÁNCHEZ, M. y CABREJO, J.**, 2023. Potencial antibacteriano de un enjuague bucal a base de Azadirachta indica (neem) sobre patógenos orales. *Revista Cubana de Medicina Militar* [en línea], vol. 52, no. 2, Disponible en: <http://scielo.sld.cu><http://www.revmedmilitar.sld.cu>.
- SAEIDNIA S, GOHARI, A.R., DEZFULI, M.- y KIUCHI F**, 2011. A review on phytochemistry and medicinal properties of the genus Achillea. *Revista DARU de Ciencias Farmacéuticas*, vol. 19, no. 3,
- SÁNCHEZ ARTIGAS, C.Rolando., SÁNCHEZ SÁNCHEZ, R., SIGCHO ROMERO, C.R. y EXPÓSITO LARA, A.**, 2021. Factores de riesgo de enfermedad periodontal. *Correo Científico Médico (CCM)* [en línea], vol. 15, no. 1, Disponible en: <https://orcid.org/0000-0002-7563-1697>.
- SÁNCHEZ GONZÁLEZ, A. y GONZÁLEZ LEDESMA, M.**, 2007. TÉCNICAS DE RECOLECTA DE PLANTAS Y HERBORIZACIÓN. *La Sistemática, base del conocimiento de la biodiversidad* . S.l.: s.n., pp. 123-133. vol. 1.
- SIMSEK, M. y DUMAN, R.**, 2017. Investigation of effect of 1,8-cineole on antimicrobial activity of chlorhexidine gluconate. *Pharmacognosy Research*, vol. 9, no. 3, ISSN 09748490. DOI 10.4103/0974-8490.210329.
- UTRIA HOYOS, J., PÉREZ PÉREZ, E., REBOLLEDO COBOS, M. y VARGAS BARRETO, A.**, 2018. Características de las soluciones de clorhexidina al 2% y al 0,2% en

preparaciones cavitarias en odontología: una revisión. *Duazary*, vol. 15, no. 2, ISSN 1794-5992. DOI 10.21676/2389783x.2103.

VALDÉZ, L. y PALACIOS, E., 2022. Prácticas etnobotánicas odontológicas de la comunidad Kichwa Playas de Oro, parroquia Santa Cecilia, cantón Lago Agrio, Provincia de Sucumbíos. *RECIMUNDO*, vol. 6, no. 1,

ANEXOS

ANEXO A: CONTROL DE CALIDAD DE LAS ESPECIES ESTUDIADAS



Humedad



Cenizas totales



Cenizas insolubles en agua



Cenizas insolubles en ácido clorhídrico

ANEXO B: TAMIZAJE FITOQUIMICO



Maceración



Extracto filtrado



Pruebas con los extractos



Resultados del tamizaje fitoquímico

ANEXO C: OBTENCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES



Equipo Albrigi



Material vegetal posterior a la extracción



Separación del aceite esencial



Envasado de los aceites esenciales

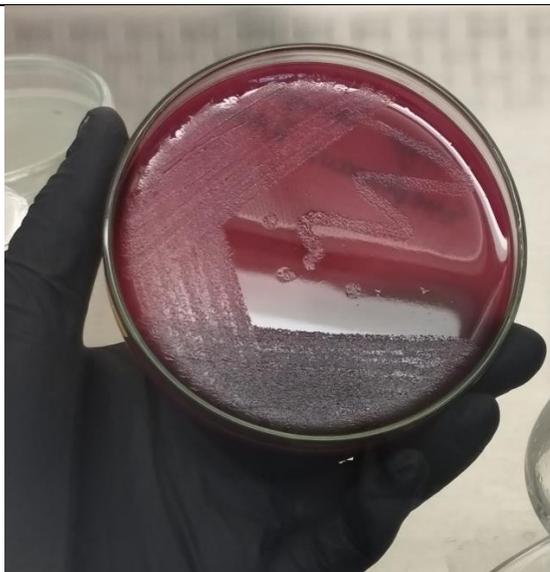
ANEXO D: ACTIVACIÓN DE LA CEPA ATCC Y PRUEBAS DE CRECIMIENTO



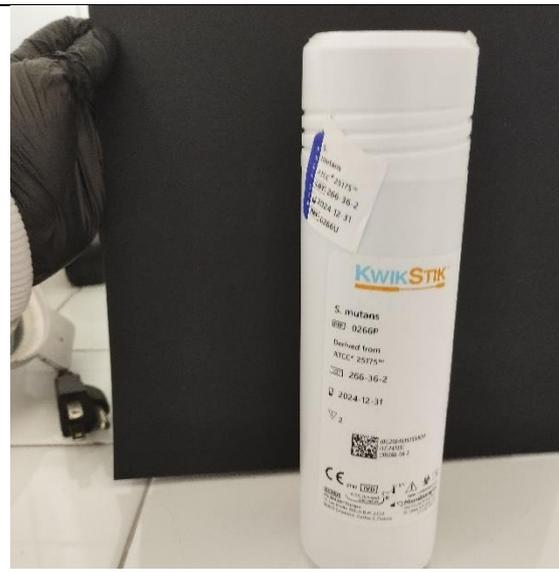
Medios de cultivo



Siembra de la cepa

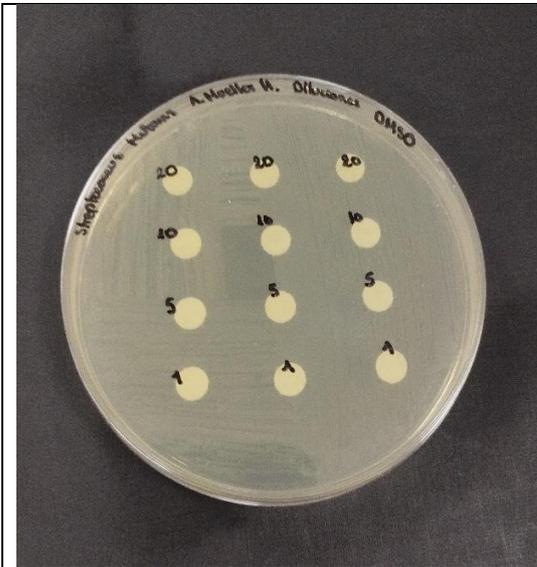


Crecimiento



Streptococcus mutans ATCC 25275

ANEXO E: ANTIBIOGRAMA CON LAS DILUCIONES DE DIMETILSULFÓXIDO Y DILUCIONES DE LOS ACEITES ESENCIALES EN DIMETILSULFÓXIDO AL 10%



Antibiograma de las diluciones de dimetilsulfóxido



Diluciones del aceite de *Achillea taygeta*

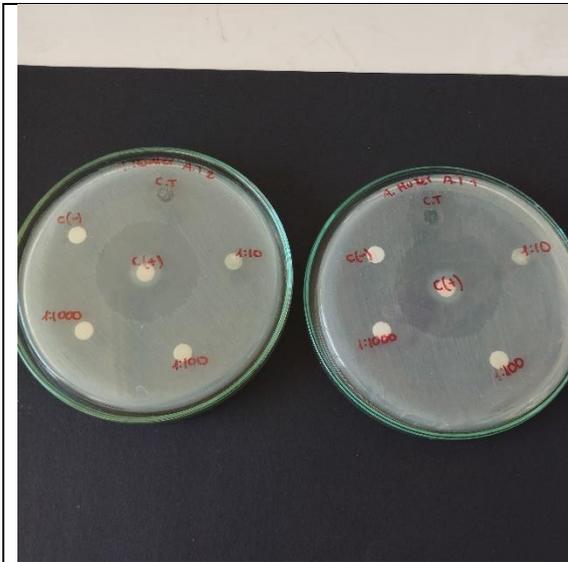


Diluciones del aceite de *Achillea holosericea*

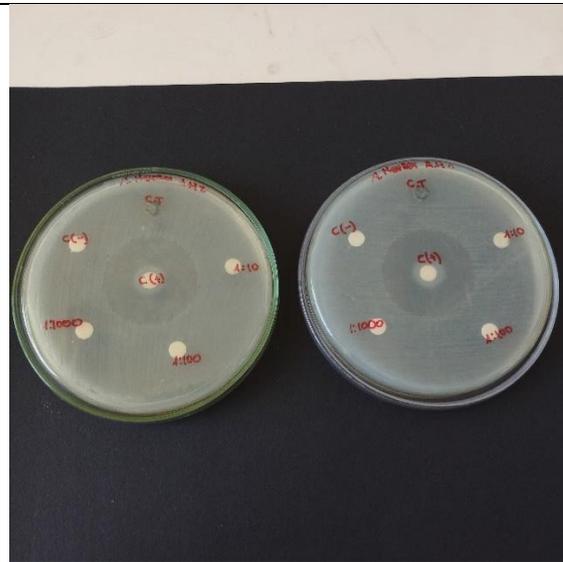


Diluciones del aceite de *Tanacetum vulgare*

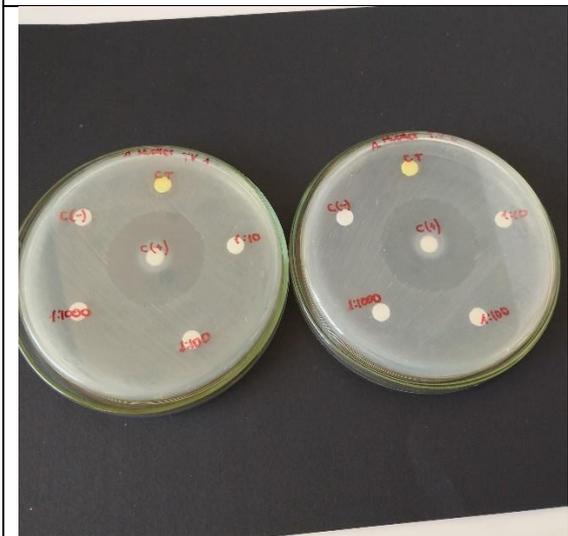
ANEXO F: ANTIBIOGRAMA DE LAS DILUCIONES DE LOS ACEITES ESENCIALES Y CLORHEXIDINA AL 2%



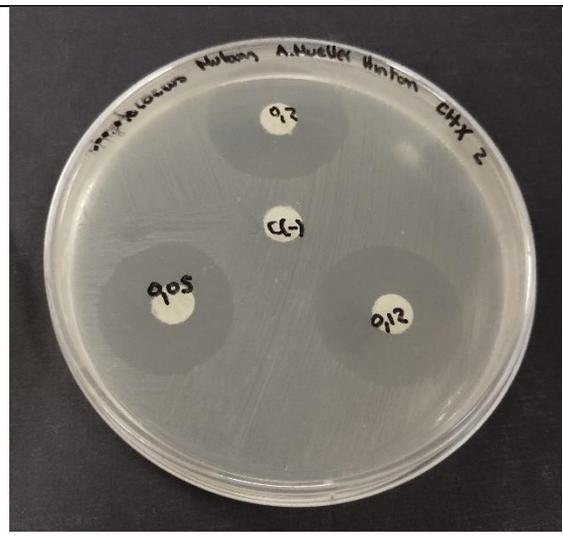
Achillea taygeta



Achillea holosericea

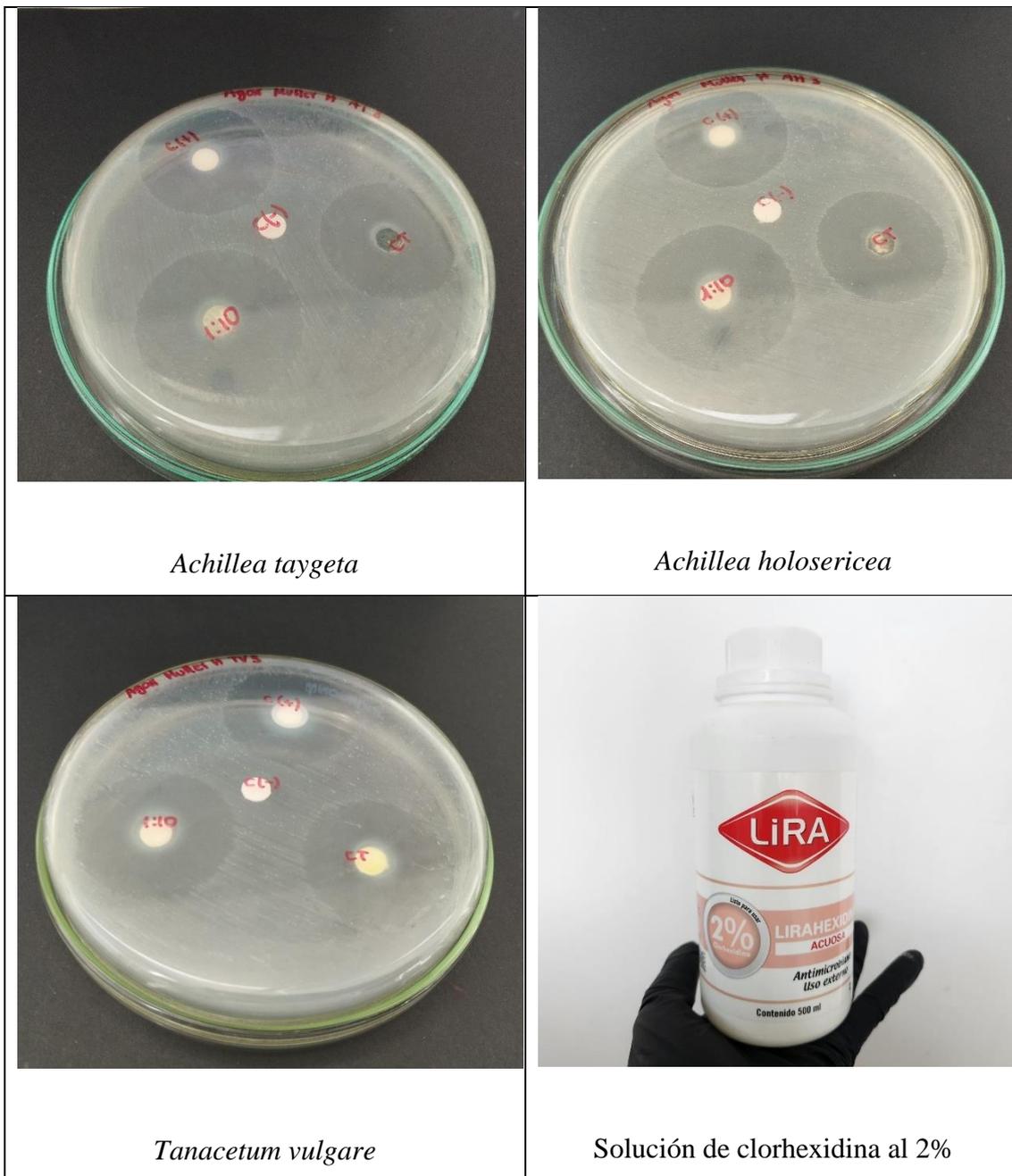


Tanacetum vulgare

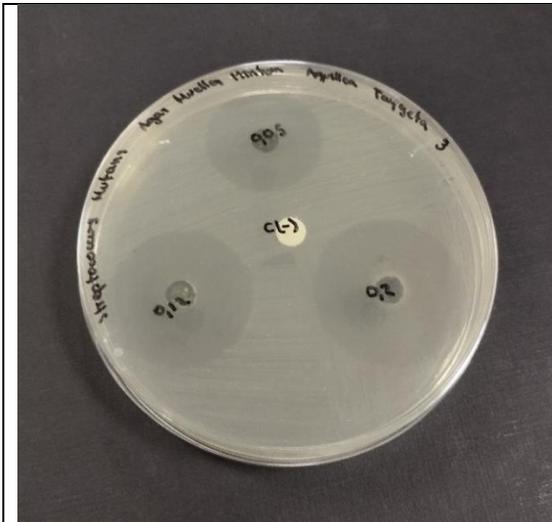


Diluciones de clorhexidina

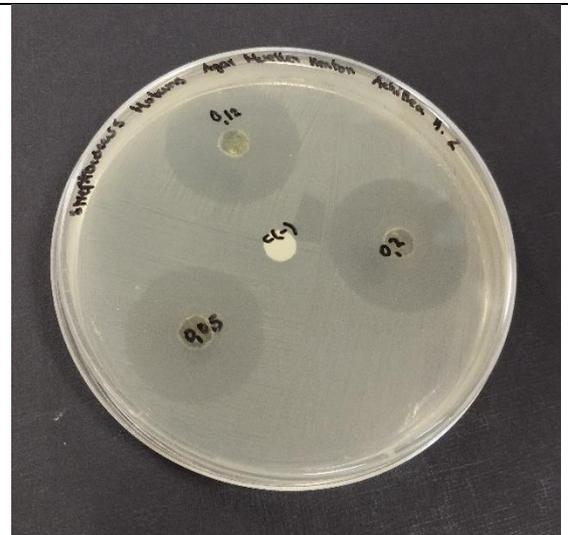
ANEXO G: ANTIBIOGRAMA DE LA COMBINACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES Y LA CLORHEXIDINA AL 2%



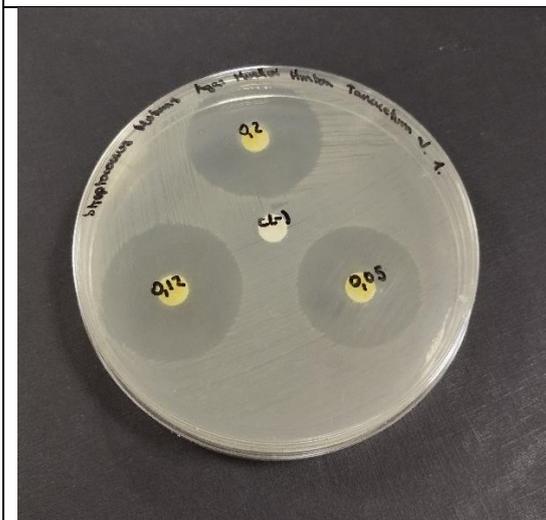
ANEXO H: ANTIBIOGRAMA DE LAS COMBINACIONES DE LOS ACEITES ESENCIALES Y CLORHEXIDINA AL 0,05; 0,12 Y 0,2%



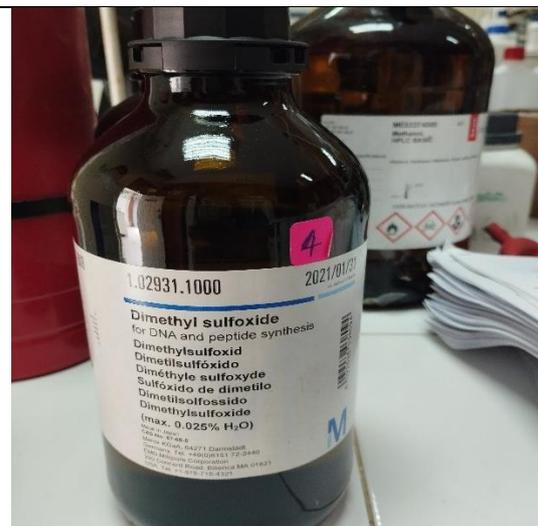
Achillea taygeta



Achillea holosericea



Tanacetum vulgare



Dimetilsulfóxido

ANEXO I: CEPA *Streptococcus mutans* ATCC 25175 - CAPILAB S.A.S.



FACTURA

No.001-001-000002176

Número de Autorización:

2706202301179308576800120010010000021763690582019

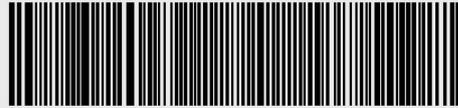
Fecha y hora de Autorización:

27/06/2023 13:48:21

Ambiente: PRODUCCION

Emisión: NORMAL

Clave de Acceso:



2706202301179308576800120010010000021763690582019

Emisor: CAPILAB S.A.S.

RUC: 1793085768001

Matriz: CALDERON (CARAPUNGO) / ATAHUALPA
29 Y PARQUE DE LOS RECUERDOS

Correo: facturacioncapilab@gmail.com

Teléfono: 0939766699

Obligado a llevar contabilidad: SI
CONTRIBUYENTE RÉGIMEN RIMPE

Razón Social: MAYERLI LISSETH LEON GARÓFALO

RUC/CI: 2350417966

Dirección: RIOBAMBA CDLA. LOS OLIVOS CALLE JAIME ROLDOS
AGUILERA Y JOSE MARIA VELASCO IBARRA

Teléfono: 0962773628

Fecha Emisión: 27/06/2023

Correo: mayerli.leon@esPOCH.edu.ec

Código Principal	Cantidad	Descripción	Detalles Adicionales	Precio Unitario	Descuento	Total
CL2312	1.00	S. Mutans ATCC 25175		165.000000	\$0.00	\$165.00

Información Adicional			
Descripción	S. Mutans ATCC 25175		
Formas de pago			
Otros con Utilización del Sistema Financiero	\$184.80	0 días	

Subtotal Sin Impuestos:	\$165.00
Subtotal 12%:	\$165.00
Subtotal 0%:	\$0.00
Subtotal No Objeto IVA:	\$0.00
Descuentos:	\$0.00
ICE:	\$0.00
IVA 12%:	\$19.80
Servicio %:	\$0.00
Valor Total:	\$184.80

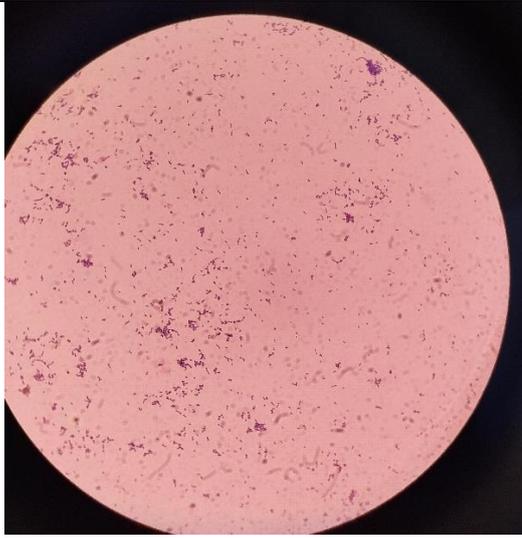
DATOS BANCARIOS PARA PAGO MEDIANTE TRANSFERENCIA

BCO. PICHINCHA CTA. CTE. #2100254919

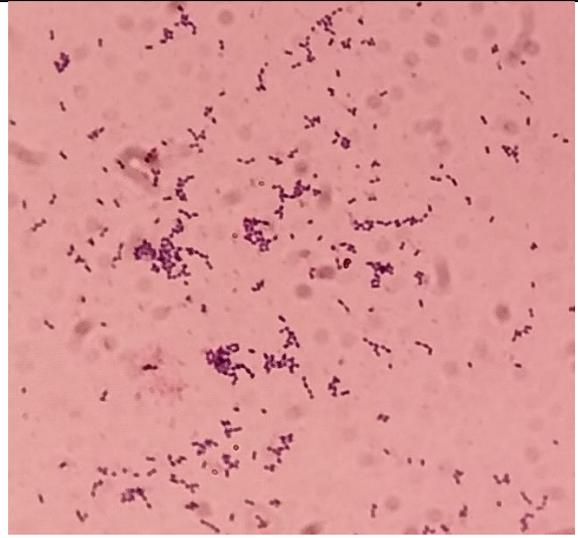
BCO. PRODUBANCO CTA. CTE. #02006161878

BCO. INTERNACIONAL CTA. CTE. #0800643573

ANEXO J: IDENTIFICACIÓN DE LA CEPA *Streptococcus mutans* MEDIANTE TINCIÓN GRAM



Vista al microscopio



Reconocimiento de la morfología

ANEXO K: AUTORIZACIÓN DE RECOLECCION DE ESPECIMENES DE ESPECIES DE LA DIVERSIDAD BIOLOGICA



Ministerio del Ambiente, Agua
y Transición Ecológica

AUTORIZACIÓN DE RECOLECCION DE ESPECIMENES DE ESPECIES DE LA DIVERSIDAD BIOLOGICA No. 325

ESTUDIANTES E INVESTIGADORES (SIN FINES COMERCIALES)

1.- AUTORIZACIÓN DE RECOLECTA DE ESPECÍMENES DE ESPECIES LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA

2.- CÓDIGO

MAATE-ARSFC-2023-0325

3.- DURACIÓN DEL PROYECTO

FECHA INICIO	FECHA FIN
2023-12-21	2024-12-21

4.- COMPONENTE A RECOLECTAR

Plantae

El Ministerio del Ambiente y Agua, en uso de las atribuciones que le confiere la Codificación a la Ley Forestal y de Conservación de Áreas Naturales y Vida Silvestre autoriza a:

5.- INVESTIGADORES /TÉCNICOS QUE INTERVENDRÁN EN LAS ACTIVIDADES DE RECOLECCION

Nº de C.I/Pasaporte	Nombres y Apellidos	Nacionalidad	Nº REGISTRO SENESCYT	EXPERIENCIA	GRUPO BIOLÓGICO
0603914318	PILCO BONILLA GISELA ALEXANDRA	Ecuatoriana	1002-12-1135873	PRODUCTOS NATURALES	Magnoliopsida
1850030626	CHIMBO VEGA KATHERINE YAJAIRA	Ecuatoriana	NO APLICA	8 MESES	Magnoliopsida

6.- PARA QUE LLEVEN A CABO LA RECOLECCION DE ESPECIMENES DE ESPECIES LA DIVERSIDAD BIOLOGICA:

Nombre del Proyecto: Estudio de la actividad antibacteriana in vitro de seis especies vegetales frente a Streptococcus mutans

7.- SE AUTORIZA LA RECOLECCION CON EL PROPOSITO DE:

Evaluar la actividad antibacteriana in vitro de seis especies vegetales frente a Streptococcus mutans
Determinar el halo de inhibición que cada una de las especies vegetales presenta frente a las cepas de interés
Determinar la actividad antibacteriana de las especies vegetales mediante un antibiograma y pruebas de sensibilidad.
Caracterizar los metabolitos secundarios presentes en las especies mediante tamizaje fitoquímico.

8.- ÁREA GEOGRÁFICA QUE CUBRE LA RECOLECCIÓN DE LAS ESPECIES O ESPECÍMENES:

PROVINCIAS	SNAP	BOSQUE PROTECTOR
CHIMBORAZO	NA	NA

9.- INFORMACIÓN DE LAS ESPECIES A RECOLECTAR

CLASE	ORDEN	FAMILIA	GENERO	ESPECIE	TIPO MUESTRA	N° MUESTRA	N° LOTE
Magnoliopsida	Asterales	Asteraceae	Achillea	Achillea millefolium	Hojas	5	
Magnoliopsida	Asterales	Asteraceae	Tanacetum	Tanacetum parthenium	hojas y flores	5	
Magnoliopsida	Malpighiales	Euphorbiaceae	Plukenetia	Plukenetia volubilis	hojas	5	
Magnoliopsida	Malpighiales	Euphorbiaceae	Ricinus	Ricinus communis	Hojas	5	
Magnoliopsida	Malpighiales	Euphorbiaceae	Croton	Croton lechleri	Latex	1	

10.- METODOLOGÍA APLICADA EN CAMPO

FASE DE RECOLECCIÓN:	Se realizará la recolección de las especies vegetales teniendo en cuenta sus características físicas, evitando aquellas con signos de deterioro ambiental y deterioro por insectos. En la recolección se emplearán guantes, bolsas de recolección y tijeras estériles para la realización de cortes precisos e incisiones, según como corresponda.
FASE DE PRESERVACIÓN:	Se realizará el lavado de las hojas de las especies vegetales con agua desfilada para retirar el material extraño y posteriormente se realizará secado a temperatura inferior a 40°C en estufas grado laboratorio.

11. METODOLOGIA APLICADA EN LABORATORIO

MÉTODOS EMPLEADOS EN EL LABORATORIO:	Determinación de los parámetros de control de calidad de la droga cruda Determinación de cenizas totales Determinación de cenizas solubles en agua Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico. Tamizaje Fitoquímico Aceites esenciales
---	--

12.- SE AUTORIZA LA UTILIZACIÓN DE LOS SIGUIENTES MATERIALES Y/O EQUIPOS PARA LA REALIZACIÓN DE ESTA RECOLECCIÓN.

Grupo Biológico a Recolectar	Descripción	Tipo de Equipamiento
Magnoliopsida	MICROSCOPIO DE ALTA RESOLUCIÓN	Equipo en Laboratorio
Magnoliopsida	REACTIVOS PARA TAMIZAJE, REVERBERO, TUBOS DE ENSAYO, SOLVENTES PARA PREPARACION DE EXTRACTOS	Material en Laboratorio

13.- COLECCIONES NACIONALES DEPOSITARIAS DEL MATERIAL BIOLÓGICO

Magnoliopsida	Herbario Escuela superior Técnica del Chimborazo
---------------	--

14.- RESULTADOS ESPERADOS

Estudios previos realizados en numerosas especies vegetales de la familia Euphorbiaceae exhiben capacidad antibacteriana debido al rico perfil fitoquímico que posee, entre ellos, flavonoides, alcaloides, saponinas, glucósidos cardíacos, terpenoides, taninos, esteroides, fenoles y antroquinonas. Ricinus communis, el ejemplar a analizar, sugiere potencial actividad como bactericida por la alta presencia de taninos, flavonoides y terpenoides, responsables del debilitamiento del tejido membranoso y la inactivación de proteínas funcionales del microorganismo.

15.- CONTRIBUCIÓN DEL ESTUDIO PARA LA TOMA DE DECISIONES A LA ESTRATEGIA NACIONAL DE BIODIVERSIDAD 2011-2020.

METAS	DESCRIPCIÓN
Meta02.15.03Hasta 2017 se ha implementado dos (2) Centros de Bioconocimiento (CBDA) en provincias seleccionadas para la conservación de la agrobiodiversidad local.	El conocimiento de los metabolitos secundarios potenciará el uso de alternativas naturales a la medicina

DE ACUERDO A LAS SIGUIENTES ESPECIFICACIONES

1. Solicitud de: **PILCO BONILLA GISELA ALEXANDRA**
2. Institución Nacional Científica : **ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

3. Fecha de entrega del informe final o preliminar: **2024/12/06**

4. Valoración técnica del proyecto: **LATORRE HURTADO ERIKA GABRIELA**

5. Esta Autorización **NO HABILITA LA MOVILIZACIÓN DE FLORA, FAUNA, MICROORGANISMOS Y HONGOS.**

6. Esta Autorización **NO HABILITA EXPORTACIÓN DE FLORA, FAUNA, MICROORGANISMOS Y HONGOS**, sin la correspondiente autorización del Ministerio del Ambiente y Agua.

7. Los especímenes o muestras recolectadas no podrán ser utilizadas en actividades de **BIOPROSPECCIÓN, NI ACCESO AL RECURSO GENÉTICO.**

8. Los resultados que se desprendan de la investigación, no podrán ser utilizados para estudios posteriores de Acceso a Recurso Genéticos sin la previa autorización del Ministerio del Ambiente y Agua.

OBLIGACIONES DEL/ LOS INVESTIGADOR/ES.

9. Ingresar al sistema electrónico de recolecta de especímenes de especies la diversidad biológica del ministerio del ambiente y agua, el o los informes parciales o finales en formato PDF, en el formato establecido.

Con los siguientes anexos:

- Escaneado de el o los certificados originales del depósito o recibo de las muestras, emitidas por las Colecciones Científicas Ecuatorianas como Internacionales depositarias de material biológico.
- Escaneado de las publicaciones realizadas o elaboradas en base al material biológico recolectado.
- Escaneado de material fotográfico que considere el investigador pueda ser utilizados para difusión. (se mantendrá los derechos de autor).

10. Citar en las publicaciones científicas, Tesis o informes técnicos el número de Autorización de Recolección otorgada por el Ministerio del Ambiente y Agua, con el que se recolecto el material biológico.

11. Depositar los holotipos en una institución científica depositaria de material biológico.

12. Los holotipos solo podrán salir del país en calidad de préstamo por un periodo no más de un año.

13. Las muestras biológicas a ser depositadas deberán ingresar a las colecciones respectivas siguiendo los protocolos emitidos por el Curador/a custodio de los especímenes.

14. Las muestras deberán ser preservadas, curadas y depositadas de lo contrario, se deberán sufragar los gastos que demanden la preparación del material para su ingreso a la colección correspondiente.

Del incumplimiento de las obligaciones dispuestas en los numerales, 9, 10, 11, 12, 13 y 14 se responsabiliza a **PILCO BONILLA GISELA ALEXANDRA**.

DIRECTOR DE BIODIVERSIDAD
VILLAVICENCIO GAIBOR RICARDO JAVIER
2024-03-13



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
CERTIFICADO DE CUMPLIMIENTO DE LA GUÍA PARA
NORMALIZACIÓN DE TRABAJOS DE FIN DE GRADO

Fecha de entrega: 02 / 05 / 2024

INFORMACIÓN DEL AUTOR
Nombres – Apellidos: Katherine Yajaira Chimbo Vega
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Ciencias
Carrera: Bioquímica y Farmacia
Título a optar: Bioquímica Farmacéutica
<p> BQE. Gisela Alexandra Pilco Bonilla MSc. Director del Trabajo de Titulación</p> <p> BQE. John Marcos Quispillo Moyota MSc. Asesor del Trabajo de Titulación</p>