



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

CARRERA DE ODONTOLOGÍA



“Actividad Antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de la planta Cassia reticulata sobre Cándida Albicans. Estudio In Vitro”.

Proyecto de investigación presentado como requisito previo a la obtención del título
de Odontóloga

AUTOR: MARILÚ JHOSELIN VALLEJO SALAZAR

TUTOR: DRA. MARINA ANTONIA DONA VIDALE

QUITO - ECUADOR

MARZO 2018

© DERECHOS DE AUTOR

Yo, Marilú Jhoselin Vallejo Salazar, en calidad de autora de la tesis realizada sobre **“Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de la planta *Cassia reticulata* sobre *Cándida Albicans*. Estudio *In vitro*.”**, autorizo a la Universidad Central del Ecuador a hacer uso del contenido total o parcial que me pertenecen, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autora me corresponden, con excepción de la presente autorización serán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8, 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

También autorizo a la Universidad Central del Ecuador realizar la digitalización y publicación de éste trabajo de investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.



.....

Marilú Jhoselin Vallejo

171436647-1

vallejosalazarmarilu@gmail.com

APROBACIÓN DEL TUTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Dra. Marina Antonia Dona Vidale, en mi calidad de tutora del trabajo de titulación, modalidad proyecto de investigación, elaborado por **Marilú Jhoselin Vallejo Salazar**; cuyo título es **“Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de la planta *Cassia reticulata* sobre *Cándida Albicans*. Estudio In vitro”**, previo a la obtención del Grado de Odontóloga; considero que el mismo reúne los requisitos y méritos necesarios en el campo metodológico y epistemológico, para ser sometido a la evaluación por parte del tribunal examinador que se designe, por lo que **APRUEBO**, a fin de que el trabajo sea habilitado para continuar con el proceso de titulación determinado por la Universidad Central del Ecuador.

En la ciudad de Quito, a los 16 días del mes de Enero de 2018.



Dra. Marina Antonia Dona Vidale

DOCENTE-TUTORA

CI. 170888442-2

APROBACIÓN DE LA PRESENTACIÓN ORAL

El Tribunal constituido por Dra. Mariela Balseca, Dra. Sandra Suárez. Luego de la presentación oral del trabajo de titulación previo a la obtención del título de Odontóloga presentado por la señorita Marilú Jhoselin Vallejo Salazar.

Con el título:

“Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de la planta Cassia reticulata sobre *Cándida albicans*. Estudio In Vitro”.

Emite el siguiente veredicto: Fecha:.....

Para constancia de lo actuado firman:

NOMBRE APELLIDO	CALIFICACIÓN	FIRMA
Presidente: Dra. Mariela Balseca	_____	_____
Vocal 1: Dra. Sandra Suarez	_____	_____

DEDICATORIA

A Dios por ser el creador de mi vida, mi luz y mi camino.

*A mi padre Guillermo Vallejo Soto quién me guió por el camino del bien y que anhele
mucho su presencia en mi días.*

A mi madre Zoila Salazar Erazo por amarme desde el primer día de mi vida.

A mi hija Madeleine que es mi fuerza, mi orgullo y mi paz.

A mi querido Ricardo por estar conmigo en todo momento.

Marilú V.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres por haberme dado la oportunidad de vivir en un hogar lleno de amor y felicidad que llevo siempre en mis recuerdos.

A mi hija Madeleine por ser quién alegra mi vida.

A mi tía Emérita por todo su cariño y comprensión durante mi existencia.

A mi compañero de vida Ricardo, quién con su paciencia y amor noble ha estado en los momentos felices y tristes de mi vida.

A la Universidad Central del Ecuador por recibirme y permitirme ser una profesional formada en sus filas.

A la Facultad de Odontología por la formación, la educación y la fortuna de haber culminado mi carrera.

A la Dra. Marina Antonia Dona por su calidad humana y las enseñanzas entregadas para la realización de éste trabajo.

Marilú V.

INDICE DE CONTENIDOS

INDICE DE CONTENIDOS.....	vii
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE ANEXOS	xi
LISTA DE TABLAS	xii
RESUMEN	xiii
ABSTRACT	xiv
INTRODUCCION.....	1
CAPITULO I.....	4
1. EL PROBLEMA	4
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
1.2. OBJETIVOS	6
1.2.1 OBJETIVO GENERAL	6
1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	6
1.3 JUSTIFICACIÓN	6
1.4 HIPÓTESIS	8
CAPÍTULO II.....	9
2. MARCO TEÓRICO	9
2.1 Microbioma Oral.....	9
2.2.1 Clasificación del Reino Fungi	13
2.2.2 Clasificación por su reproducción sexual desconocida.....	13
2.2.3 Acción patógena de los hongos	14
2.2.4 Cándida Albicans	14
2.2.4.1 Taxonomía.....	15
2.2.4.2 Candidiasis	16
2.2.4.3 Clasificación clínica candidiásica	17
2.3 Tratamiento	19
2.3.1 Fármacos Antifúngicos	19
2.3.1.1 Ketoconazol.....	20
2.3.1.2 Nistatina	21
2.4 Herbología	21

2.4.1 Categorías para clasificar el uso de las plantas	22
2.4.2 Fitoterapia.....	23
2.4.3 Plantas medicinales en el Ecuador	24
2.5 Cassia Reticulata.....	25
2.5.1 Taxonomía.....	26
2.5.2. Descripción de la planta	26
2.5.3 Composición química.....	28
2.5.4 Hábitat	28
2.5.5 Propiedades Terapéuticas	28
2.5.6. Acción terapéutica en odontología	29
2.5.7 Efectos adversos y tóxicos.....	29
CAPITULO III	30
3. METODOLOGÍA.....	30
3.1 Tipo de investigación.....	30
3.2 Población y muestra.....	30
3.2.1 Criterios de inclusión	30
3.2.2 Criterios de exclusión.....	31
3.3 Variables	31
3.3.4 Conceptualización de las variables	32
3.4 Aspectos bioéticos y metodológicos.....	33
3.4.1 Estandarización	33
3.4.2 Riesgos potenciales del estudio.....	34
3.4.3 Beneficios potenciales del estudio	34
3.5 Organización y planificación	34
3.5.1 Instalaciones	34
3.5.2. Recursos humanos.....	35
3.5.3 Recursos utilitarios.....	35
3.6 Procedimientos, técnicas y adquisiciones	36
3.6.1 Obtención de la planta Cassia reticulata en su hábitat.	36
3.6.2 Obtención del extracto hidroalcohólico	37
3.6.3 Medio de Cultivo.....	38
3.6.4 Activación de la cepa <i>Cándida Albicans</i> ATCC® 10231™	39

3.6.5 Patrón de turbidez McFarland	40
3.6.6 Inoculación bacteriana.....	41
3.6.7. Colocación de las diluciones sobre discos blancos	42
3.6.8 Incubación de colonias fúngicas	43
3.6.9 Medición de las zonas de inhibición	43
3.7. Manejo, bioseguridad y protección.....	45
3.8 Eliminación de desechos.....	46
3.9 Métodos de recolección de datos	46
CAPITULO IV	47
4. RESULTADOS	47
4.1 Análisis estadístico	48
CAPITULO V	56
5. Discusión	56
6. Conclusiones.....	59
7. Recomendaciones	60
8. BIBLIOGRAFIA	61
ANEXOS.....	63

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Hoja paripinnada, <i>Cassia reticulata</i>	27
Figura 2. Inflorescencia y brácteas características, <i>Cassia reticulata</i>	27
Figura 3. <i>Cassia reticulata</i>	36
Figura 4. Recolección, lavado y rocío con alcohol planta <i>Cassia reticulata</i>	37
Figura 5. Diluciones al 50%, 75% y 100% del extracto hidroalcohólico de la planta <i>Cassia reticulata</i> . Dilución ketoconazol 15 mg/ml (envase blanco).....	38
Figura 6. Colocación del medio de cultivo Agar Dextrosa Sabouraud 4% Merck sobre discos Petri.....	39
Figura 7. Activación de la cepa <i>Cándida albicans</i> ATCC® 10231™.....	40
Figura 8. Comparación del caldo inóculo con el patrón estándar McFarland.....	41
Figura 9. Inoculación bacteriana en el medio de cultivo.....	42
Figura 10. Discos blancos embebidos con el extracto y colocados en las cajas Petri... ..	42
Figura 11. Colocación cajas Petri en la incubadora por un periodo de 24 y 48 horas. .	43
Figura 12. Contador de colonias tipo Quebec®	43
Figura 13. Medición halos de inhibición.....	44
Figura 14. Cámara de flujo laminar tipo II.....	45
Figura 15. Autoclave derecha esteriliza material contaminado antes de su proceso final de eliminación. Autoclave izquierda esteriliza material previo a su uso.....	46
Figura 16. Pruebas no paramétricas Kruskal Wallis	50

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Factura de autenticidad de compra cepa <i>Cándida albicans</i> ATCC® 10231™	63
Anexo 2. Aprobación para el uso de los laboratorios de Ciencias Químicas.....	64
Anexo 3. Certificado de Aprobación del SEISH-UCE.	65
Anexo 4. Idoneidad ética experticia del investigador principal	66
Anexo 5. Idoneidad ética experticia del tutor.....	67
Anexo 6. Declaración de conflicto de intereses del investigador principal	68
Anexo 7. Declaración de conflicto de intereses del tutor.....	69
Anexo 8. Certificado de elaboración del extracto hidroalcohólico de la planta <i>Cassia reticulata</i>	70
Anexo 9. Análisis de las propiedades organolépticas y físicas del extracto hidroalcohólico de la planta <i>Cassia reticulata</i>	71
Anexo 10. Certificado de calidad de la cepa <i>Cándida Albicans</i> ATCC® 10231™, adquirida a la empresa MEDIBAC.....	72
Anexo 11. Instrucciones de uso y activación de la cepa <i>Cándida Albicans</i> ® 10231™.	73
Anexo 12. Certificado de la realización de las pruebas bacteriológicas	74
Anexo 13. Certificado de los resultados del análisis inhibitorio.....	75
Anexo 14. Certificado de esterilización de los materiales	76
Anexo 15. Protocolo de manejo de desechos infecciosos	77
Anexo 16. .Autorización para la eliminación de desechos infecciosos utilizados en la investigación.....	78
Anexo 17. Renuncia al trabajo estadístico	79
Anexo 18. Certificado URKUND-Antiplagio.....	80
Anexo 19. Certificado de traducción oficial	81
Anexo 20. Autorización para publicación en el repositorio digital.....	82

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Resultados inhibición	47
Tabla 2. Pruebas de normalidad.....	48
Tabla 3. Pruebas no paramétricas Kruskal Wallis	49
Tabla 4. Prueba no paramétrica Kruskal Wallis	51
Tabla 5. Comparación por pareja de sustancias.....	52
Tabla 6. Prueba Mann-Whitney extracto 75% similar ketoconazol	54
Tabla 7. Prueba Mann-Whitney ketoconazol similar extracto 100%	54
Tabla 8. Prueba Mann-Whitney extracto 100% similar nistatina.....	55

TEMA: “Actividad Antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de la planta Cassia reticulata sobre Cándida Albicans. Estudio In Vitro”.

Autor: Marilú Jhoselin Vallejo Salazar

Tutora: Dra. Marina Antonia Dona Vidale

RESUMEN

Con base científica se conoce que, Cándida Albicans es el hongo más frecuente en la cavidad oral, caracterizándose por ser oportunista y patógeno importante. Es por ésta razón que éste estudio está encaminado a la búsqueda de nuevas alternativas, de fácil acceso y bajo costo, con la finalidad de tratar patologías orales, mediante la utilización de los principios activos de las plantas medicinales. Se planteó identificar la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de la planta Cassia reticulata en concentraciones de 50% 75% 100% sobre cepas de Cándida Albicans ATCC® 10231™, con medicamento control positivo ketoconazol 15mg/ml y nistatina 30mg/ml, y para el control negativo agua destilada. El extracto de la planta Cassia reticulata se obtuvo por maceración a temperatura ambiente con solución hidroalcohólica. Para activar la levadura se utilizó Agar dextrosa Sabouraud 4% (Merck) vertidas en placas Petri estériles. Se midió la zona de inhibición formada alrededor de los discos de filtro embebidos por las concentraciones del extracto. Como resultado se determinó que: las concentraciones de Cassia reticulata al 75% y 100% obtuvieron actividad inhibitoria frente a Cándida Albicans, no hubo respuesta antimicrobiana con la concentración al 50%. La nistatina 30mg/ml obtuvo mayor halos de inhibición en comparación con ketoconazol 15mg/ml.

PALABRAS CLAVES: CÁNDIDA ALBICANS, CASSIA RETICULATA, EXTRACTO HIDRALCOHÓLICO.

TOPIC: “Antimicrobial effect of the hydro-alcoholic extract of the *Cassia reticulata* plant on the *Candida Albicans*. In Vitro study”.

Author: Marilu Jhoselin Vallejo Salazar

Tutor: Dr. Marina Antonia Dona Vidale

ABSTRACT

There is scientific probe that the *Candida Albicans* is the most common fungus in the oral cavity, and it is characterized by being an opportunist and a relevant pathogen. It is why this study aims at seeking new alternatives, easy to obtain at a low cost, in order to treat oral pathologies through the use of the main components of medicinal plants. It was proposed to identify the antimicrobial activity of the hydro-alcoholic extract of the *Cassia reticulata* plant at 50%, 75% and 100% on strains of *Candida Albicans* ATCC® 10231™. The positive control was made with ketoconazole 15mg/ml and nystatin 30mg/ml, and the negative control was made with distilled water. The *Cassia reticulata* extract was obtained through maceration at room temperature with a hydroalcoholic solution. The yeast was activated with Sabouraud dextrose agar 4% (Merck) put in sterile Petri dishes. It was measured the inhibition area formed around the discs with the concentrations of the extract. As a result, it was determined that the concentrations of *Cassia reticulata* at 75% and 100% showed an inhibitory effect on the *Candida Albicans*. There was no antimicrobial effect in the 50% concentration. The nystatin 30mg/ml had greater inhibition halos when compared with the ketoconazole 15mg/ml.

KEY WORDS: *CANDIDA ALBICANS*, *CASSIA RETICULATA*, HYDRO ALCOHOLIC EXTRACT.

INTRODUCCION

Una planta medicinal es un recurso biológico, que tiene propiedades activas capaces de aliviar enfermedades. Matera et al (1) afirman que, los países en vías de desarrollo producen 2/3 partes de las especies vegetales medicinales de todo el mundo. El uso de remedios de origen herbario, se remontan a la historia, en las que virtualmente todas las culturas que hemos conocido tienen evidencias del uso medicinal de plantas.

En los últimos años las personas han regresado a la medicina tradicional herbolaria, ya sea por lo natural o por los descubrimientos de los efectos dañinos de los fármacos sintéticos (2). La necesidad del hombre de curar sus dolencias, lo ha encaminado a las plantas y sus beneficios, práctica que se ha mantenido a lo largo de los siglos (3). Stella et al (4) mencionan que el uso de la medicina natural se da en mayor porcentaje en las zonas rurales y de estratos económicos más bajos.

El consumo de la medicina herbolaria, ha ido aumentando en los últimos años. La OMS (5) asegura que, la atención primaria de salud de hasta un 80% de la población de los países en desarrollo se basa en la medicina tradicional, ya sea por enseñanza ancestral, o porque en los lugares en los que viven no existe otra opción.

En los países de primer mundo, muchas personas recurren a diversos tipos de remedios naturales porque consideran que «natural» es sinónimo de inocuo. Dentro de la medicina tradicional, las especies de plantas con propiedades curativas juegan un papel muy importante en aliviar problemas inmediatos de salud.

En el Ecuador hay 16'221.610 habitantes hasta abril 2017 lo asegura INEC (6). El Sistema Nacional de Salud (SNS) se fragmenta en pública y privada, de los cuales, el 20% de la población cuenta con algún tipo de seguro, (IESS, ISSFA, ISSPOL, SEGURO CAMPESINO). Mientras tanto, el 80% de la población ecuatoriana no tiene protección garantizada.

Es por ésta razón, que al ser los servicios de salud una de las necesidades más sentidas en nuestro país, las personas han buscado alternativas de curación en plantas. Con base a éste planteamiento, se considera que cada vez es más importante revalorar los usos de plantas medicinales, ya que en ellas se encuentra un recurso inofensivo y eficaz para satisfacer y complementar las necesidades de salud.

En los últimos años, el avance científico en cuanto a descubrir medicamentos naturales contra enfermedades fúngicas oportunistas ha ido conduciendo a muchas investigaciones de nuevos recursos biológicos que puedan ser empleados en el manejo integrado de padecimientos, con menos efectos negativos para las personas por tratarse de productos naturales.

La producción de sustancias bioactivas a través de extractos de origen vegetal han permitido re-conducir lo que hasta ahora se conoce y ser un co-ayudante en la medicina moderna. Hernández (7), asegura que todos los estudios de extractos y esencias en plantas antimicrobianas encaminarán a que las personas puedan utilizar los recursos naturales de su país sin miedo que represente un riesgo para la salud humana.

El extracto de las plantas es variable, depende del tipo de tejido, edad de la planta, su hábitat y tipo de suelo. La medicina natural es una alternativa sustentable, de economía accesible, amigable con el medio ambiente y potencialmente renovable.

Dentro de éstos recursos usados en la herbología, encontramos a los extractos de la especie *Cassia reticulata*, familia Fabaceae. Es una planta poco estudiada en el campo de la odontología. Perteneciente a las regiones cálidas de América del Sur.

Nunes do Santos et al (8) mencionan en su estudio la composición química de la planta *Cassia reticulata* donde encontraron seis antraquinonas, que se utilizan para el tratamiento de las aftas y otras afecciones de las mucosas bucales y sus infusiones se usan como laxantes. También se utiliza en purgantes, en particular para desparasitar.

Negroni (9) en sus estudios señala que, *Cándida Albicans* es una levadura con características muy diversas y que puede asumir patogeneidad y causar Candidiosis cuando tiene lugar una alteración en la inmunidad del huésped, así mismo menciona más de doscientas especies de *Cándida*.

Al menos ocho tipos de especie de *Cándida* son de interés en Odontología, la candidiasis es el prototipo clásico de una infección oportunista, y que se trata de un organismo comensal de la cavidad oral, que se convierte en patógeno cuando existen los factores predisponentes apropiados como es la xerostomía, uso nocturno de prótesis removible, tabaquismo, terapéutica antibiótica, trastornos inmunológicos, etc. (10)

Con ésta investigación, se pretende obtener resultados favorables contra *Cándida Albicans*, que ayuden al tratamiento de manera natural, que sea de bajo costo y de accesibilidad inmediata para las personas más necesitadas que no pueden recurrir a la medicina moderna con facilidad, mejorando así su calidad de vida, salud y bienestar. Y sentar un precedente en estudios posteriores, en dónde se pueda emplear en productos anti fúngicos de la cavidad bucal y ser un beneficio para quien lo requiera.

CAPITULO I

1. EL PROBLEMA

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Cándida Albicans puede pasar de su estado inofensivo a una situación patógena por alteración en la susceptibilidad del huésped. En las personas inmunodeprimidas suelen dar un indicador precoz de la enfermedad catastrófica que conllevan, marcando la etapa de severidad y afirmando un pronóstico de la misma. La forma de transmisión y propagación es mediante la transmisión endógena, por contacto a través de la piel y las mucosas, por inoculación o mordedura (11) (12).

Es una infección que se localiza en todo el mundo, en las últimas dos décadas las tasas de mortalidad y morbilidad de éstas patologías se han incrementado, éste es el primer signo de deterioro inmunológico en una persona. La Cándida albicans es capaz de adoptar nuevas formas, lo que le hace resistente a los fármacos, la forma micelial es más virulenta que la forma levaduriforme. La habilidad de la C. Albicans en formar tubos germinales es lo que le da la total capacidad virulenta, aunque hacen faltan muchos estudios más que avalen ésta teoría (13).

De todas las especies de hongos, Cándida Albicans es la más prevalente y suelen ser los primeros en sacar partido de cualquier reducción del sistema defensivo de la célula huésped. La forma clínica de infección por miembros del género Cándida se lo conoce como Candidiasis. La candidiasis es provocada por una proliferación excesiva de Cándida Albicans, cuando se infiltran en las capas de la mucosa bucal, y se presenta una infección odontopatógena (10) (14).

Sapp et al (10) indican que las infecciones por *Cándida Albicans* clínicamente tienen lugar en la superficie de la mucosa, donde algunas son blancas y se desprenden con facilidad a lo que Carranza et al (14) afirman de igual manera que, son fáciles de desprender con una gasa.

Otros tipos básicos de candidiasis oral son de color rojo, eritematoso lo cual se debe a la atrofia y erosión epitelial, y a una intensa inflamación de tejido subyacente.

Las prótesis dentales mal ajustadas y con muchos años de uso, se pueden asociar a la candidiasis como factor predisponente (12). Barata et al (15) en su estudio, indican que la *C. Albicans* está presente en el 35% de los casos de factores predisponentes asociados a prótesis dental. Así mismo, recalca que la candidiasis es una patología de origen multifactorial, que no se puede atribuir a factores concretos, pero si a un cúmulo de ellos.

La ubicación de cualquier tipo de prótesis dental en boca, provoca inevitables variaciones en el medio bucal, que obligan a los tejidos a reaccionar para adaptarse a nuevas situaciones. En general, cualquier irritación de la mucosa por uso protésico tiene un buen pronóstico si se elimina el factor causante (16).

La localización de la candidiasis suele presentarse en la superficie del epitelio o próximos al mismo, la medicación anti fúngica es más efectiva vía tópica, que la administrada vía sistémica. Nuevos estudios han indicado que para el tratamiento de la candidiasis se puede emplear nano partículas bioadhesivas como moduladores de la adherencia de las células epiteliales vestibulares (10) (14).

El desarrollo de patogeneidad, la resistencia a los procedimientos terapéuticos y la capacidad de evadir las defensas del huésped son las situaciones que requieren nuevas estrategias de control, prevención y curación. Panizo (13) asegura que, como comensal de la cavidad bucal, la *cándida* se adhiere a las proteínas de la saliva y las bacterias cercanas para evitar su eliminación, lo que nos podría indicar que éste es el primer paso para propagarse la infección.

Por estos motivos, es necesaria la investigación de nuevos productos naturales, que alivien las necesidades de los enfermos y disminuyan los efectos secundarios de los fármacos que existen en la actualidad.

Formulación de la pregunta de investigación:

¿Será que el extracto hidroalcohólico de la planta Cassia Reticulata posee un efecto antimicrobiano sobre *Cándida Albicans*?

1.2. OBJETIVOS

1.2.1 OBJETIVO GENERAL

Identificar la Actividad Antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de la planta Cassia reticulata sobre *Cándida Albicans*. Estudio In vitro.

1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la actividad antimicrobiana de la planta Cassia reticulata sobre cepas de *Cándida Albicans* en una concentración del 100%.
- Determinar la actividad antimicrobiana de la planta Cassia reticulata sobre cepas de *Cándida Albicans* en una concentración 75%.
- Determinar la actividad antimicrobiana de la planta Cassia reticulata sobre cepas de *Cándida Albicans* en una concentración de 50%.

1.3 JUSTIFICACIÓN

Al menos el 98% de los recursos vegetales siguen sin ser explorados, lo que demuestra que existen muchos productos biológicos activos capaces de ser utilizados para desarrollar prototipos de medicamentos naturales nuevos y así evitar toxicidad con los fármacos sintetizados en laboratorios (17).

El uso medicinal de las plantas es el resultado de la experiencia y el íntimo contacto que el hombre ha acumulado desde tiempos ancestrales, el convivir con diferentes culturas y en diferentes pueblos, y que éste conocimiento milenario es lo que le ha permitido la supervivencia a pueblos que se encuentran lejanos a la medicina de las grandes ciudades (18)

La OMS en el año 1977 llamó a introducir al Sistema Nacional de Salud de cada país recursos medicinales ancestrales y acupuntura, lo que produjo un auge a nivel mundial (5).

En base a estudios se conoce que la planta *Cassia Reticulata* *sinonimia Nessa Reticulata*, es un colonizador a campo abierto, resistente a la sequía y la inundación, y que es capaz de rebrotar en las condiciones más desfavorables, lo que sugiere una investigación a fondo para entender sus mecanismos y sus posibles incursiones en el campo de la medicina, ya que hoy en día el 99% de los colonos los consideran una hierba sin importancia (19).

De ésta manera, se revela la importancia del estudio de nuevas sustancias a partir de plantas medicinales que podemos encontrar en el Ecuador. Que ayuden con los problemas bucales, que sean de costo accesible y que permita reducir el consumo de fármacos hechos en laboratorios, lo que es perjudicial para la salud a largo plazo. Lo que se pretende buscar en éste estudio es que: el extracto hidroalcohólico de la planta *Cassia Reticulata* de positivos en contra de *Cándida Albicans*, es decir que podamos demostrar la inhibición fúngica, para que ésta sustancia siga siendo investigada en estudios posteriores y poder emplear nuestros propios recursos como primera alternativa en el “arsenal” ecuatoriano terapéutico.

1.4 HIPÓTESIS

HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACION

El extracto hidroalcohólico de la planta Cassia Reticulata posee efectos anti fúngicos sobre Cándida Albicans.

HIPÓTESIS NULA

EL extracto hidroalcohólico de la planta Cassia Reticulata no posee efectos anti fúngicos sobre Cándida Albicans.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Microbioma Oral

El microbioma oral es un término que abarca a toda la comunidad ecológica existente entre microorganismos patógenos, simbióticos y comensales que comparten nuestra cavidad bucal.

Nuestro cuerpo está formado con alrededor de un billón de células, de las cuáles, unos cien millones son el número de bacterias que conviven con cada persona. Y, el microbioma oral representa el 26% del microbioma total humano. En la boca encontramos unos de los ecosistemas más diversos de todo el cuerpo, encontrando bacterias, hongos, protozoarios y virus, los cuales viven en equilibrio mientras la susceptibilidad del huésped no se vea afectada por diferentes situaciones como las enfermedades.

En la cavidad bucal todas las superficies están recubiertas por microbioma, las cuales al volverse patógenas producen infecciones bacterianas lo que desencadena en una condición susceptible a ciertas enfermedades bucales como las provocadas por la levadura *Cándida Albicans*. La presencia de una microbioma oral equilibrada, libre de virulencia, depende de ciertos factores como la presencia de nutrientes, el pH, la temperatura, el nivel de oxígeno, el uso de antibióticos en tiempos prolongados, entre otros (20).

La ecología bucal está compuesta al menos por 600 taxones de especie, repartidos en los diferentes hábitats de la boca como la lengua, los dientes, el surco gingival, el paladar duro, paladar blando, las amígdalas, las encías, los dientes (21)

En base a estudios científicos se conoce que la flora oral normal ofrece beneficios a la cavidad bucal al ejercer presión sobre microorganismos ajenos a la boca para que no colonicen y así poder mantener un equilibrio. En la cavidad bucal existen alrededor de 200 especies de microorganismos transitorios y al menos 20 especies son residentes (20).

La cavidad bucal es la puerta de entrada de bacterias provenientes del medio ambiente, por ende posee un ecosistema oral formado por alrededor de seis mil millones de bacterias, las cuales se dividen en patógenas y no patógenas, unas son transitorias, otras realizan fagocitosis sobre microorganismos ajenos para obtener ventajas y simbiosis (20).

2.2 Reino Fungi

Los hongos son organismos diferenciados estructural y morfológicamente de las bacterias, animales y vegetales. A lo largo de la historia los seres humanos han implementado el uso de los hongos a su vida cotidiana, para la fermentación y maduración de quesos, embutidos, pan, alcohol. Se emplea los hongos para producir ácido glutámico, cítrico, antibióticos y antifúngicos (9).

Los hongos se desarrollan en climas húmedos, en la naturaleza viven sobre los vegetales. Existen alrededor de 300.000 especies fúngicas en el mundo, de importancia médica y veterinaria son alrededor de 200 especies. A comienzos del siglo XX, se produjo un gran interés por estudiarlos, ya que provocaban infecciones <candidiasis> en humanos, especialmente en personas inmunodeprimidas, portadores del SIDA, y por el uso prolongado de fármacos (9).

La necesidad de vivir de sustancias orgánicas, han clasificado a los hongos como heterótrofos; cuando se alimentan de materia orgánica viva se denominan saprobios, cuando se alimentan de sustancia orgánica muerta se denominan saprofitos (9).

Los organismos fúngicos son heterótrofos, aerobios, mesófilos o micro aerobios, poseen enzimas que actúan en la degradación de nutrientes, los hongos viven a una temperatura de 20°C a 38°C, un pH de 5,6 a 7,2. No poseen la capacidad de formar tejidos, poseen un cuerpo denominado <talo> de características unicelulares o pluricelulares (9).

El talo pluricelular se denomina micelio, posee ramificaciones a manera de tubos cilíndricos encolumnadas denominadas hifas, las mismas que crecen por su extremo apical. Las hifas que se han ramificado dentro del sustrato para obtener más nutrientes se denominan rizoides. Los hongos que poseen un talo se denominan levaduras, los hongos que poseen micelios se denominan mohos (9).

La nutrición fúngica se realiza a través de la pared celular, mediante la entrada de sales, aminoácidos, monosacáridos y agua, las cuales son degradadas por las enzimas capaces de actuar sobre estructuras complejas como los lípidos y las proteínas. Los hongos se reproducen por esporas sexuales o asexuales, que son estructuras uninucleadas o multinucleadas inmóviles, sin flagelos. En mitosis, se produce una división nuclear sin perder la membrana. En meiosis existen núcleos diploides (9).

Las células fúngicas poseen una compleja estructura que se detalla a continuación (9):

- **Cápsula:** cubierta de defensa externa de la pared celular de los anticuerpos del hospedador, formado por polisacáridos.
- **Pared celular:** estructura rígida formada por quitina y proteínas, la función principal es la permeabilidad contra agentes extraños, facilitan el paso de nutrientes y la eliminación de desechos. Sus componentes pueden activarse a manera de antígenos que provocan una respuesta alérgica del hospedador.
- **Membrana plasmática:** estructura interna que ayuda a mantener el equilibrio de la célula, formadas por fosfolípidos y proteínas, posee en su estructura enzimas importantes como el citocromo P450 que al sintetizar ergosterol crea un punto blanco donde los fármacos actúan para inhibir su función.
- **Citoplasma:** parte fundamental de la célula, ubicada entre la membrana plasmática y el núcleo celular, en su interior se localizan los orgánulos celulares como el aparato de Golgi, ribosomas, retículo endoplasmático, etc.
- **Ribosomas:** son complejos macromoleculares que generan propias proteínas, poseen en su estructura ARN, la unión de varios ribosomas sobre las membranas del retículo endoplasmático se denomina polirribosomas.
- **Mitocondrias:** estructuras que poseen ADN auto replicable, en general poseen una forma alargada, pero varía según el medio en que se localice.

2.2.1 Clasificación del Reino Fungi

En la actualidad al reino fungi se lo clasifica en cuatro grupos que se describirán a continuación (9) (22):

- ✓ **Ascomycota:** el grupo de fúngicos más extenso, representando la mitad del reino. Reproducción sexual y asexual. Posee hongos patógenos para el humano.
- ✓ **Basidiomycota:** Poseen fúngicos macroscópicos como las setas. Posee hongos patógenos, alucinógenos y tóxicos para el humano.
- ✓ **Zygomycota:** Reproducción sexual o asexual, produce cadenas de hifas sobre el pan <moho del pan>. Posee hongos patógenos para el humano.
- ✓ **Chytridiomycota:** pertenecen a la clasificación más antigua. Son saprofitos primitivos, razón por la cual no posee patógenos para el humano.

2.2.2 Clasificación por su reproducción sexual desconocida

Existe otra clasificación de acuerdo a su reproducción sexual desconocida, constituyendo un grupo indiferenciado (22):

- **Deuteromycota:** fúngico de característica saprofíticas, no se conoce su mecanismo de reproducción (sexual o asexual). En los humanos produce muget y pie de atleta.
- **Hongos imperfectos:** de características sexuales desconocidas. Posee actividad patógena en humanos.

- **Mitospóricos:** ausencia de estado de reproducción conocida. Patógeno en humanos.

2.2.3 Acción patógena de los hongos

Los hongos en condiciones heterótrofas actúan sobre un organismo vivo, sea animal o humano; a través de tres importantes mecanismos (9):

- **Invasión y proliferación en los tejidos:** penetran, se dispersan y se aseguran de crear una respuesta de inmunidad frente a los antígenos.
- **Liberación de toxinas:** algunas especies de hongos son capaces de producir un metabolito secundario de tipo tóxico denominado <micotoxinas>.
- **Sensibilización:** se encargan de producir una respuesta antigénica frente a los anticuerpos del hospedador.

El consumo de hongos que se localizan en la naturaleza puede ser tóxico para el hombre, puede causar daños en el hígado, en las neuronas, causar problemas gastrointestinales e inclusive llegar a la muerte. Todos los síntomas de intoxicación por hongos se denominan “micetismo” (9).

2.2.4 Cándida Albicans

Las levaduras del género Cándida, en especial la especie Albicans, provocan la mayoría de las micosis orales, al ser una enfermedad asintomática es muy probable su recidiva. En la consulta dental es frecuente ver patologías micóticas en personas con un deterioro en su higiene, sistema inmunitario bajo, diabetes, alteraciones leucocitarias, ingesta prolongada de proteínas, uso excesivo de fármacos, prótesis desadaptadas y deterioradas (9).

El género *Cándida* posee alrededor de 8 especies de levaduras, de las cuales la más virulenta y prevalente es la *Cándida Albicans* dentro de las patologías orales fúngicas, es un hongo diploide asexual saprófito, a manera de levadura, polimorfo ramificado en pseudo hifas (10).

Crecen como levaduras en presencia de monosacáridos y aerobiosis. En presencia de carbono, polisacáridos y micro aerobiosis crecen a manera de pseudohifas. *Cándida Albicans* es un eumiceto, que no participa de fase sexual en su reproducción, conocido como hongo imperfecto. Es un microorganismo patógeno facultativo, que puede pasar de su estado comensal a una situación virulenta por alteración del huésped (9) (11).

Es libre en la naturaleza, residentes normales dentro de cavidad bucal, en situación no patógena se localiza además en mucosa vaginal, tracto respiratorio e intestinal, además se localiza en la piel, en mayor cantidad en zonas de mayor humedad (11).

2.2.4.1 Taxonomía

A la *Cándida albicans*, se la clasifica de acuerdo a su taxonomía en (9) (10) (11) (22):

División: Deuteromycota

Clase: Blastomycetes

Familia: Cryptococcaceae

Género: *Cándida*

Especie: *Albicans*

2.2.4.2 Candidiasis

Es un término que abarca las infecciones clínicas bucales producidas por miembros del género *Cándida*, como son especies *Cándida Albicans*, *Cándida Glabrata*, *Cándida Tropicalis*, *Cándida Parapsilosis*, *Cándida Guilliermondii*, éstos microorganismos en situación comensal y en estado inmunológico apropiado no representan un riesgo, pero poseen una elevada virulencia en alteración de la inmunidad del huésped (10).

La virulencia representada por la *Cándida Albicans*, se debe a la capacidad que posee para evitar los mecanismos defensivos del hospedador, a la resistencia proporcionada por sus enzimas para activarse frente a fármacos fúngicos y a la manera de dañar tejidos donde se encuentra. Posee la capacidad de alterar su morfología, evitando así la fagocitosis, así mismo, el cambio fenotípico que poseen los vuelve más patógenos capaces de resistir los tratamientos fúngicos (22).

La candidiasis de la mucosa oral se presenta a manera de infección superficial causada por *Cándida albicans*, de prevalencia repetitiva y de incidencia severa. La xerostomía, la hipersalivación, la temperatura, el pH de la boca, son factores predisponentes para que la *Cándida* produzca infección. Cuando el hongo *Albicans* o cualquier otro patógeno invasor se localiza en boca, la saliva produce un mecanismo de defensa tratando de arrastrar hacia el estómago las levaduras presentes para que no invadan., Pero como se mencionó en la estructura de los hongos, éstos poseen hifas, las cuales se ramifican rápidamente en boca tratando de <sujetarse> mediante la adhesión de los blastoconidios a la superficie mucosa (11) (22)

En la mayoría de los casos la candidiasis se manifiesta a manera de placas blancas que se desprenden fácilmente, y en menor de los casos se presenta a manera de lesiones rojas, de intensa inflamación.

Factores predisponentes para que se presente candidiasis son el uso prolongado de antibióticos, uso continuo de prótesis dentales acompañado de mala higiene bucal, uso de corticoides, inmunodepresión, VIH (10).

La candidiasis también puede afectar a las papilas filiformes de la lengua, presentando un aspecto liso y rojo (10). La presencia de candidiasis en cavidad bucal marca un indicador de probabilidad elevado donde posiblemente el huésped posea depresión en su sistema inmunológico a consecuencia de una enfermedad (12).

Cuando las prótesis dentales se asocian a candidiasis inducen a la formación de estomatitis Subprotésica, puede ser por la edad de la prótesis, la calidad del material de la prótesis, alergia a los componentes, desadaptación protésica entre otros (10).

Para actuar frente a *Cándida*, los fármacos tratan de intervenir en los mecanismos de adhesión de sus estructuras blastoconideas con los epitelios afectados. De acuerdo a su capacidad virulenta *cándida albicans* es la más virulenta, seguida de *tropicalis* y *Parapsilosis*, la especie *krusei* y *guilliermondii* no poseen la capacidad de adherencia epitelial por lo que no representan un riesgo potencial en la cavidad bucal (22).

2.2.4.3 Clasificación clínica candidiásica

Formas clínicas de candidiasis oral según Liebana Ureña (22) se enumeran a continuación:

- Agudas: pseudomembranosas y eritematosas
- Crónicas: pseudomembranosas, eritematosas e hiperplásicas
- Lesiones asociadas: queilitis angular, estomatitis protésica y glositis rómbica.

Candidiasis pseudomembranas aguda o muget

Infección por *Cándida albicans* a manera de placas blancas, amarillentas cremosas asentadas sobre epitelio eritematoso que puede ulcerar. Factores predisponentes: xerostomía, inmunosupresión, quimioterapia, diabetes (10) (22).

Candidiasis eritematosa aguda

Produce mucho dolor y sensibilidad, se localiza en lengua, paladar. Se encuentra en personas portadoras de VIH, y personas que han consumido fármacos antibacterianos por tiempo prolongado (10) (22).

Candidiasis hiperplásica

Forma clínica de una infección caracterizada por presentar placas en la superficie epitelial. Asintomática. Localizada en la parte posterior de las comisuras, en la mucosa yugal, siguiendo la línea oclusal. Se denomina leucoplasia candidiásica ya que posee placas o manchas blancas (10) (22).

Queilitis angular

Fisuras en las comisuras de la boca, de característica sintomática, condiciones como las arrugas y la vejez pueden causar su aparición. Se asocia con lesiones pseudomembranas intraorales. Es muy característico en personas que han perdido la dimensión vertical por edentulismo. Interconsulta con un rehabilitador oral y medicación antifúngica. Si se desaparece las causas de pérdida de dimensión vertical se soluciona la queilitis (10) (22).

Glositis rómbica

Infección crónica por *Cándida albicans*, a manera de placa a lo largo de la superficie sin papilas de la región dorsal media de la lengua, lesión asintomática, que puede pasar desapercibida durante años en las personas, aumenta con el tiempo la

dimensión hasta convertirse en una hiperplasia crónica candidiásica. Se reportan casos en personas fumadoras, diabéticos y portadores de prótesis (10) (22).

Estomatitis protésica

Es una lesión de la mucosa caracterizada por eritema, de mayor localización en la mucosa del paladar del maxilar superior. Se asocia a prótesis dentales mal ajustadas, desadaptadas, deterioradas, mal fabricado. En los pacientes con higiene protésica deficiente es común la presencia de estomatitis Subprotésica. Se presenta a manera de erosión superficial. Es más prevalente en mujeres que en hombres (10) (22).

2.3 Tratamiento

El primer paso es eliminar las causas que la provocan, tabaco, alcohol o prótesis desadaptadas, seguido de un control farmacológico empleando antifúngicos. Los medicamentos como la nistatina actúan en las etapas más tempranas de la candidiasis; mientras que el ketoconazol actúa en recidivas y virulencia alta como por ejemplo VIH (10) (22).

La resistencia a los antifúngicos por parte de los hongos se da mediante alteraciones en la permeabilidad de las membranas, inactivación de antifúngicos por medio de sus enzimas hidrolíticas, desvíos del ergosterol perdiendo así la capacidad de ataque de los fármacos (9) (10) (22).

2.3.1 Fármacos Antifúngicos

La resistencia a los medicamentos por parte del hospedador hace que constantemente se requiera nuevas alternativas de fármacos, capaces de inhibir y combatir patologías; es por eso que es necesaria la investigación de nuevos productos capaces de actuar frente a levaduras que han desarrollado formas de resistencia.

Se requiere encontrar medicamentos capaces de provocar acciones fungicidas o fungistáticos sin provocar daño al organismo humano (23). Un agente antifúngico es todo aquella sustancia que actúa directamente sobre la membrana plasmática del microorganismo deteniendo su desarrollo, desactivando su crecimiento y retirando su capacidad de supervivencia (23).

2.3.1.1 Ketoconazol

Es un derivado triazólico capaz de suspender el desarrollo e inhibir el crecimiento de los hongos atacando directamente sobre su estructura celular <ergosterol>, se utiliza para tratar infecciones fúngicas dérmicas superficiales, sistémicas y gastrointestinales. Se encuentra a manera de comprimidos, tabletas y cremas. Ketoconazol vía oral posee una vida de 8 horas, se absorbe en el intestino, metabolismo hepático y excreción intestinal (20).

Ketoconazol es un medicamento indicado para tratamientos candidiásicos bucales, faríngeos y esofágicos;<inclusive indicado para tratar resistencias por VIH>. Las tabletas se deben ingerir con alimentos para prevenir daños gástricos, el tratamiento depende de la susceptibilidad del paciente, la resistencia de la levadura y la dosis (24).

Como la mayoría de fármacos, su metabolismo es hepático, por lo que es un medicamento contraindicado en enfermedades del hígado, no se puede administrar a menores de 2 años ya que sus componentes son muy tóxicos, no se puede consumir alcohol mientras dura el tratamiento con ketoconazol (24).

La absorción eficaz del medicamento ketoconazol en las paredes intestinales dependen directamente del pH local, es un medicamento que pierde sus propiedades al interactuar con otros fármacos a la vez, ya que el estómago pierde su secreción ácida (24).

2.3.1.2 Nistatina

Medicamento empleado en infecciones por hongos de tipo oral, vaginal, intestinal, cutáneo y esofágico.

Lescano et al (25) indican que la nistatina es un medicamento antifúngico de tipo poliénico, con poca absorción intestinal a dosis bajas, que se aísla en cultivos de *streptomyces noursei*, es un medicamento capaz de impedir el crecimiento fúngico.

Barata (15) asegura que a más de erradicar el origen de las molestias emplear nistatina como medicamento antifúngico tópico cada ocho horas ayuda a desaparecer la presencia del hongo en la cavidad bucal.

Su eliminación es por vía renal, se emplea en infecciones fúngicas de piel y mucosas, tales como la candidiasis o la estomatitis (15) (25).

2.4 Herbología

El estudio de las hierbas y plantas se remonta a la historia, donde el hombre debía emplear el uso de las plantas que el planeta le otorgaba para aliviar sus enfermedades, dolencias y evitar la muerte. Las plantas poseen un metabolismo maravilloso, que les permite dar un variado arsenal de posibilidades de cura para las enfermedades (26).

Cada pueblo en el mundo posee su forma autóctona de curar enfermedades con plantas propias de su región, los conocimientos que han pasado de generación en generación, conservando su origen ancestral han viajado por el tiempo, hasta hoy en día dónde se conoce un mayor interés en el uso de plantas medicinales, especialmente en los países occidentales subdesarrollados. (26)

Por generaciones el hombre ha acumulado experiencia en el uso de plantas con fines medicinales, lo que le ha permitido la supervivencia, en especial en lugares remotos donde el acceso a la medicina moderna es nulo. Dicha experiencia ha formado

curanderos, parteras, shamanes, responsables de la salud a base de saberes y conocimientos ancestrales (18).

2.4.1 Categorías para clasificar el uso de las plantas

Los recursos y beneficios que brindan las plantas para el desarrollo del ser humano en su vida, en su alimentación y en su entorno diario se detallan a continuación (18) (26):

- **Alimentarias**

Plantas con beneficios y propiedades comestibles, nutritivas, y empleadas para beber.

- **Aporte gustativo**

Plantas cuyo sabor sirve para ser usados en el procedimiento y en la preparación de comidas y bebidas para mejorar el gusto al comer.

- **Apícola**

Plantas que son divisadas por abejas para obtener polen, resinas o néctar, con lo que producen miel y propóleo. Ésta categoría se separa de “alimentos de invertebrados” por la importancia que tiene la apicultura en países en desarrollo como Ecuador.

- **Combustible**

Plantas usadas para la elaboración de carbón como sustitutos del petróleo, alcoholes combustibles e indicadores de combustión, no incluye la leña porque cualquier planta leñosa, en caso de necesidad puede ser usada como tal.

- **Social**

Plantas usadas con propósitos culturales netamente, y que no se definen como alimenticias o medicinales, incluyendo plantas alucinógenas, estimulantes y

anticonceptivas, así como plantas para la curación de algunas enfermedades culturales como “mal aire”, “espanto”, y purificaciones

- **Tóxico**

Plantas que poseen la capacidad de envenenar a los vertebrados tanto de manera accidental como intencionada, riesgo serio de enfermar, herir o matar.

- **Medicinal**

Plantas enteras o por partes cuyos principios activos son utilizados para aliviar, tratar y combatir enfermedades humanas y veterinarias.

2.4.2 Fitoterapia

Dónde la medicina tradicional sintética ha perdido fuerza, nace la medicina alternativa cuyo principio fundamental es utilizar las plantas que la naturaleza provee, de manera inocua, suplementaria, a manera de terapia para curar enfermedades (26).

La finalidad terapéutica para prevenir, apalea y curar una enfermedad mediante el extracto, la maceración, la infusión, el aceite, entre otros procesos biológicos se denomina fitoterapia, bajo la perspectiva ancestral. Se considera como terapia alternativa al uso de plantas y sus derivados para curar un estado patológico, limitando éste uso por vía oral, tópica o inhalatoria. Excluyendo vía parenteral (27).

El óptimo funcionamiento de la fitoterapia es directamente proporcional a la forma en que se recolectó la planta y la conservación de la misma. La incorrecta manipulación puede provocar degradación, desprendimiento de olor, cambios de color, desecación, los cuales, disminuyen la calidad terapéutica (28).

2.4.3 Plantas medicinales en el Ecuador

La increíble biodiversidad de plantas en territorio ecuatoriano siempre ha sido muy reconocida y estudiada. En el año 1999, se publicó un estudio estadounidense sobre las plantas ecuatorianas *Las plantas vasculares del Ecuador (Jørgensen & León-Yáñez 1999)*, revelando que existen alrededor de 16.000 especies de plantas, desatando el auge investigativo para poder dar a conocer las riquezas medicinales que poseemos como país.

Reseñas históricas indican que en 1735, junto a la Misión Geodésica Francesa, llegaron por primera vez al Ecuador científicos cuyo fin fue recolectar plantas medicinales para estudiarlas y posterior publicar sus resultados en toda Europa (Ulloa Ulloa & Neil 2005, Jørgensen et al. 2006).

Así mismo, un estudio botánico para el año 2000, denominado *Libro Rojo de las Plantas Vasculares del Ecuador (Valencia et al. 2000)* revela que al menos 4011 especies de plantas en el Ecuador son únicas en el mundo.

Desde tiempos pasados, se tiene evidencias de la sabiduría ancestral de los pueblos indígenas sobre la curación de males y dolencias mediante el uso de plantas medicinales, cuando los misioneros acompañaban a los conquistadores en sus expediciones a lo largo de los bosques andinos, regiones amazónicas, planicies y valles de Ecuador y toda América del Sur.

En un país mega diverso con miles de plantas, se realizaron estudios importantes tales como el *Proyecto BEISA* (Biodiversidad de especies económicamente importantes de los Andes), un estudio que involucra a países de la región como Bolivia y Ecuador, proyecto financiado por Dinamarca, cuya finalidad fue impulsar el estudio científico en países sub desarrollados. Y varios años después concluyeron que al menos 5172 especies son útiles en el Ecuador. Lo que indica que 3 de cada 10 plantas en el Ecuador sirven para la gente. *Libro Rojo de las Plantas Vasculares del Ecuador (Valencia et al. 2000)*.

Al aproximado de su uso se conoce que de las 5172 especies, el 60% son medicinales, 20% uso social y religioso, 55% fuente de construcción y el 35% comestible. Al sobrepasar el total a más del 100% significa que algunas plantas tienen múltiples usos. *Libro Rojo de las Plantas Vasculares del Ecuador (Valencia et al. 2000)*.

La distribución geográfica indica que en la sierra ecuatoriana hay la mayor cantidad de plantas útiles 47%, seguido de la región amazónica con el 42%, mientras la región insular y el litoral poseen un 12%. *Libro Rojo de las Plantas Vasculares del Ecuador (Valencia et al. 2000)*.

La familia Fabaceae es el género taxonómico con más predominio en cantidad y variedad de especies dentro del Ecuador, y las menos estudiadas, a ésta taxonomía pertenece la planta *Cassia reticulata* que es de nuestro interés investigativo.

2.5 Cassia Reticulata

De *sinonimia Senna reticulata*, llamado popularmente como “Martin Galvis” o “matapasto”. Árbol pionero, colonizador a gran escala de planicies inundables del amazonas, resistente a la inundación, posee la habilidad de rebrotar en condiciones desfavorables (19).

Árbol de ubicación cálida, junto a los ríos, soporta meses de lluvia y puede mantenerse vivo en inundaciones grandes, siempre y cuando las hojas se mantengan fuera del agua. Posee una maravillosa dispersión de semilla, lo que le hace conocido como <matapasto> ya que invade fácilmente los bosques tropicales (19).

2.5.1 Taxonomía

El árbol *Cassia reticulata*, sinonimia *Senna reticulata*, pertenece a la familia Fabaceae o Leguminosae, representadas con 20.000 especies de árboles-arbustos localizados en América del Sur y África. Es la tercera familia con la mayor riqueza de especies. Se lo conoce en toda América del Sur como matapasto, bajagua, yuyo y Martin Galvis (29)

Reino: Plantae

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae

Género: *Senna*

Especie: *reticulata*

Sinonimia: *Cassia*

2.5.2. Descripción de la planta

Se presenta a manera de árbol, arbusto o hierbas perennes o anuales, de característica heliofíticas. Es una leguminosa, atrae el nitrógeno atmosférico y lo fija en el suelo de tal manera que lo hace inocuo, puede fácilmente colonizar zonas despobladas, posee una alta asimilación fotosintética, lo que favorece en su crecimiento. Es capaz de soportar condiciones climáticas extremas como las inundaciones. Florece durante cinco meses (septiembre-marzo) y fructifica durante cuatro (noviembre-marzo) (19) (29) .

A continuación se detallan sus características (19) (29):

- Hojas: paripinadas, alternas y compuestas. Foliolos hasta 18cm de largo y 8 de ancho, base redondeada y bordes enteros. (VER FIGURA 1)
- Tallo: 8 a 10 metros de altura aproximadamente.
- Flores: actinoformas, las flores nacen en la extremidad de un tallo, su característica principal son las brácteas amarillas. (VER FIGURA 2)
- Frutos: vaina verde de 16cm de largo que contiene hasta 20 semillas



Figura 1. Hoja paripinnada, *Cassia reticulata*.

Elaboración: Cantón Arenillas, Provincia de El Oro. **Fecha:** 19/10/2017

Fuente: Vallejo Salazar Marilú Jhoselin

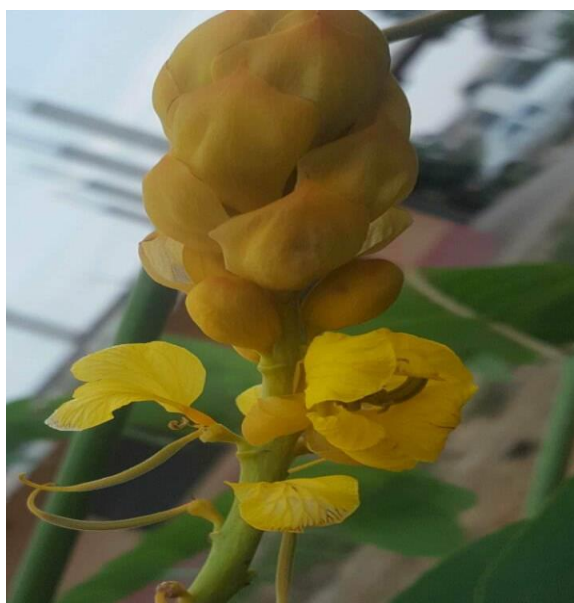


Figura 2. Inflorescencia y brácteas características, *Cassia reticulata*.

Elaboración: Cantón Arenillas, Provincia de El Oro. **Fecha:** 19/10/2017

Fuente: Vallejo Salazar Marilú Jhoselin

2.5.3 Composición química

La composición química de la planta *Cassia reticulata* presenta en su estructura seis compuestos orgánicos de características aromáticas derivadas del antraceno, denominadas antraquinonas, se enumeran a continuación (8):

- Crisofanol.
- Fisción.
- Aloe-emodina
- 1,3,8- trihidroantraquinona
- 3-metoxi-1,6,8-trihidroxiantraquinona
- Emodina

Además presenta xantona, terpenos, esteroides, flavonoides (8).

2.5.4 Hábitat

La planta de nombre común “Martin Galvis”, y de nombre científico *Cassia reticulata*; sinonimia *Nessa reticulata*, se localiza en los climas tropicales-húmedos de América del Sur. Cerca de ríos y caminos. Es un árbol precursor de la llanura amazónica, se encuentra en lugares donde hay abundante agua. Crece en alturas de 0 a 600 msnm. En Ecuador se localiza en la región litoral. Provincia de El Oro, cantón arenillas a 6msnm (8) (29).

2.5.5 Propiedades Terapéuticas

A lo largo de la historia, la planta *Cassia Reticulata* ha sido utilizada en reumatismos, afecciones hepáticas, mordeduras de serpientes, patologías cutáneas, hipoglucemiantes en diabéticos, artritis, fiebre, neumonía, cicatrizante, antiparasitario. Las hojas trituradas junto a zumo de limón actúan efectivamente sobre la tiña (8) (19) (29).

2.5.6. Acción terapéutica en odontología

Al poseer en su estructura ácido crisofánico la planta tiene la capacidad de actuar frente a herpes. Posee efectos fúngicos y antibacterianos (19) (22).

2.5.7 Efectos adversos y tóxicos

A dosis elevadas de consumo puede causar efectos nocivos en el organismo, provoca vómito, efecto laxante (29)

CAPITULO III

3. METODOLOGÍA

3.1 Tipo de investigación

Experimental: involucra un uso exacto de las variables, con la finalidad de detallar como se crea una circunstancia en específico.

In vitro: la investigación experimental se realizó en un entorno cerrado y controlado, fuera del organismo.

Comparativo: se comparó la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de la planta *Cassia reticulata* en tres concentraciones diferentes, con controles positivos de ketoconazol 15 mg/ml y nistatina 30mg/ml sobre cepas de *Cándida Albicans* ATCC® 10231™.

3.2 Población y muestra

La actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico en estudio, se determinó a partir de una cepa liofilizada de *Cándida Albicans* ATTC® 10231™, la misma que fue importada por la empresa MEDIBAC. Se realizó 15 unidades experimentales de cajas Petri con Agar dextrosa Sabouraud (Merck). (VER ANEXO 1)

3.2.1 Criterios de inclusión

- Cepas de *Cándida Albicans* no contaminadas con ningún medicamento o reactivo previo a la experimentación.

3.2.2 Criterios de exclusión

- Cepas de *Cándida Albicans* incapaces de restituirse en el medio de cultivo.
- Cepas de *Cándida Albicans* que se hayan sometido a experimentos previos.
- Cepas de hongos que no sean *Cándida albicans* ATCC® 10231™.
- Cajas Petri que no fueron sometidas a esterilización previa.
- Cajas Petri que han sufrido algún daño en su estructura.

3.3 Variables

2.3.1 Variable dependiente

- Actividad antimicrobiana

2.3.2 Variable independiente

- Extracto hidroalcohólico de la planta *Cassia reticulata* en concentraciones de 50% 75% y 100%.

2.3.3 Variable control

- **Control positivo:** ketoconazol 15 mg/ml y nistatina 30mg/ml
- **Control negativo:** agua destilada

3.3.4 Conceptualización de las variables

	VARIABLES	DEFINICIÓN	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALAS
DEPENDIENTE	Actividad Antimicrobiana	Capacidad de inactivar su crecimiento y proliferación sin dañar el organismo en el que localiza.	Tamaño del halo de inhibición fúngico.	Nula (-) Sensible (+) Muy sensible (++) Sumamente sensible (+++)	Nominal
INDEPENDIENTE	Extracto hidroalcohólico de la planta Cassia reticulata en distintas concentraciones.	Representa el porcentaje en el que el extracto va a ser disuelto.	Dilución hidroalcohólica del extracto de la planta Cassia reticulata obtenida por maceración a temperatura ambiente.	Concentraciones del extracto hidroalcohólico de la planta Cassia reticulata al 50% 75% y 100%	Ordinal
VARIABLE DE CONTROL	Ketoconazol 15 mg/ml Nistatina 30 mg/ml (Control Positivo)	Fármacos de elección en patologías candidiásicas.	Solución al 15mg/ml y 30mg/ml respectivamente.	Nula (-) Sensible (+) Muy sensible (++) Sumamente sensible (+++)	Nominal
VARIABLE DE CONTROL	Agua destilada (Control negativo)	En su composición posee H ₂ O. Es agua purificada mediante el proceso de destilación.	H ₂ O	Nula (-) Sensible (+) Muy sensible (++) Sumamente sensible (+++)	Nominal

3.4 Aspectos bioéticos y metodológicos

La investigación fue de tipo experimental, in vitro, comparativo. Se realizó con el consentimiento de la Dra. Isabel Fierro, Decana de la Facultad de Ciencias Químicas, quién autorizó el uso de las instalaciones del Laboratorio de Química del Departamento de Ofertas, Servicios y Productos de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador (OSP), y del Laboratorio de Análisis Clínico y Bacteriológico de la Facultad de Química de la Universidad Central del Ecuador. (VER ANEXO 2).

La totalidad de la investigación se llevó a cabo en condiciones controladas, sin experimentación en seres vivos, únicamente con cepas liofilizadas fúngicas que crecen en aereobiosis. Por ende no es necesario un consentimiento informado ni una declaración de confidencialidad. El análisis de los fundamentos bioéticos, jurídicos y metodológicos de la presente investigación fueron avalados por el Comité de Ética de la Universidad Central. (VER ANEXO 3)

Idoneidad ética experticia del investigador principal y del tutor

Las respectivas cartas se detallarán en anexos. (VER ANEXO 4 Y 5)

Declaración de conflicto de intereses del investigador principal y del tutor

Las respectivas cartas se detallarán en anexos. (VER ANEXO 6 Y 7)

3.4.1 Estandarización

Éste estudio fue realizado por un solo investigador, el contenido bibliográfico ha sido revisado eficazmente. Fue orientado, dirigido y supervisado por la Dra. Marina Antonia Dona Vidale, quién guió con sus conocimientos para desarrollar potencialmente éste proyecto.

3.4.2 Riesgos potenciales del estudio

Improbable que exista riesgo para el investigador, se acató las normas de bioseguridad propuestas por el laboratorio de análisis clínico y bacteriológico de la Facultad de Química de la Universidad Central. Y, ya que el proceso experimental se llevó a cabo fuera del organismo viviente, no se estuvo expuesto a fluidos corporales, la experimentación microbiológica in vitro fue supervisada por especialistas, llevando normas de orden en todo momento.

3.4.3 Beneficios potenciales del estudio

El estudio tendrá como favorecido directo a la Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador, ya que es la primera investigación con ésta planta en el país. Los beneficiarios indirectos serán los estudiantes y docentes ya que a través de éste estudio se espera buscar alternativas naturales que actúen contra microorganismos fúngicos. Se aguarda que más investigadores se interesen en el potencial terapéutico oculto de la planta.

3.5 Organización y planificación

3.5.1 Instalaciones

- Laboratorio de Química del departamento Ofertas, servicios y productos de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador.
- Laboratorio de análisis clínico y bacteriológico de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador.
- Unidad de titulación de la Facultad de Odontología.

3.5.2. Recursos humanos

Para la elaboración de ésta investigación se necesitó de un equipo multidisciplinario formado por microbiólogo Dra. Rachide Acosta, quién fue la encargada de supervisar el proceso experimental, bioquímico farmacéutico B.F Darwin Roldán, quien realizó el extracto y las tres distintas concentraciones, ingeniero Jaime Molina, quien receptó los datos y los convirtió en tablas y cuadros estadísticos para su comparación. Y odontólogos de la Facultad de Odontología, quienes son los encargados de evaluar el avance y los procesos finales de la investigación para que los resultados sean acertados y fidedignos.

3.5.3 Recursos utilitarios

Equipos

- Refrigeradora
- Cabina de flujo laminar II
- Incubadora
- Autoclave
- Equipo tipo Quebec

Materiales

- Discos papel filtro 6mm de diámetro
- Guantes
- Hisopos
- Mascarilla

Instrumentales

- Cajas Petri
- Pipeta
- Puntas para pipeta
- Pinzas estériles
- Tubos de ensayo
- Gradilla

Sustancias

- Extracto hidroalcohólico *Cassia reticulata*
- Agua destilada
- Ketoconazol 15mg/ml
- Nistatina 30 mg/ml
- Agar Sabouraud dextrosa 4% Merck.
- Solución McFarland 0,5.
- Cepa liofilizada *Cándida Albicans* ATCC® 10231™

3.6 Procedimientos, técnicas y adquisiciones.

3.6.1 Obtención de la planta *Cassia reticulata* en su hábitat.

La planta *Cassia reticulata* “Martín Galvis”, se adquirió en estado natural, directamente de su ubicación geográfica en el cantón Arenillas, Provincia de El Oro, barrio El Cisne, a una altura de 6 metros sobre el nivel del mar, junto a un camino vecinal, cerca de la proximidad al río Arenillas.



Figura 3. *Cassia reticulata*
“Martín Galvis”.

Elaboración: Cantón Arenillas, Provincia de El Oro.

Fecha: 19/10/2017 **Fuente:** Vallejo Salazar Marilú Jhoselin

3.6.2 Obtención del extracto hidroalcohólico

Se recolectó de la planta fresca las hojas, flores tallo y fruto. Se lavó con agua fría, se roció alcohol y se dejó secar a temperatura ambiente sobre una superficie limpia, evitando la contaminación por un período de 2 días para obtener un producto limpio, semi- deshidratado y homogéneo, los cuales fueron rotulados y colocados en fundas de cierre hermético y llevadas hasta el laboratorio de servicios, ofertas y productos (OSP) de la Facultad de Química de la Universidad Central del Ecuador, dónde procedieron a realizar el extracto propiamente dicho. (VER ANEXO 8)



Figura 4. Recolección, lavado y rocío con alcohol planta *Cassia reticulata*.

Elaboración: Cantón Arenillas, Provincia de El Oro. **Fecha:** 19/10/2017

Fuente: Vallejo Salazar Marilú Jhoselin

El laboratorio de farmacéutica del Departamento de Ofertas, Servicios y Productos de la Facultad de Química de la Universidad Central del Ecuador realizó el mecanismo de obtención del extracto hidroalcohólico de la planta *Cassia reticulata* en un periodo de 5 días, para la verificación del estudio se realizaron pruebas de densidad, pH, olor, color, aspecto. (VER ANEXO 9)

Se obtuvo una medida aproximada de 30ml del extracto hidroalcohólico de la planta *Cassia reticulata*, la cual fue dividida en 10ml para la concentración 50%, 10ml para la concentración 75% y 10ml para la concentración al 100%. Se realizó una radiación de los tres frascos líquidos con la intención de disminuir la presencia de agentes contaminantes, todo éste mecanismo fue procesado en el laboratorio de farmacéutica del departamento de Ofertas, servicios y productos de la Facultad de Química.

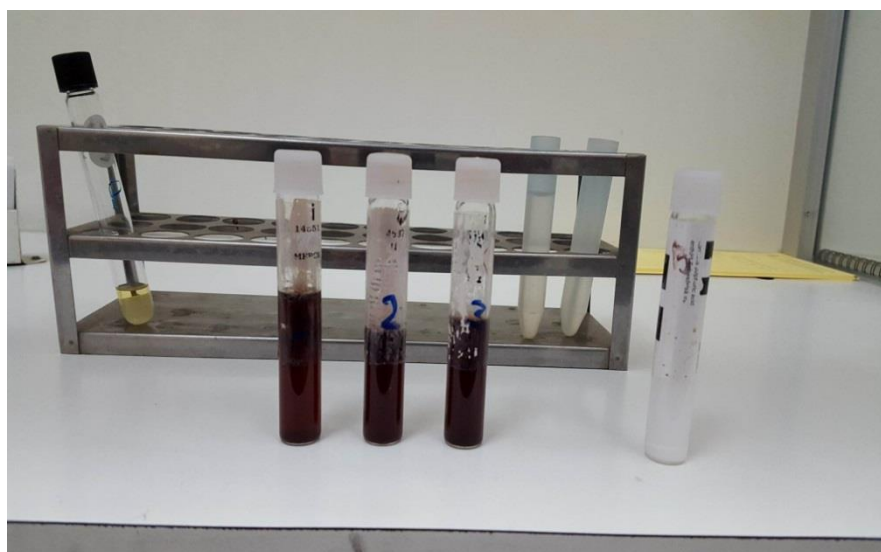


Figura 5. Diluciones al 50%, 75% y 100% del extracto hidroalcohólico de la planta *Cassia reticulata*. Dilución ketoconazol 15 mg/ml (envase blanco).

Elaboración: Laboratorio de farmacéutica del Departamento de Ofertas, Servicios y Productos de la Facultad de Química de la Universidad Central del Ecuador.

Fecha: 01/12/2017 **Fuente:** Vallejo Salazar Marilú Jhoselin

3.6.3 Medio de Cultivo

Agar Dextrosa Sabouraud 4% Merck, fue el medio de cultivo seleccionado, ya que contiene los nutrientes necesarios para el crecimiento de levaduras y hongos, en éste caso de *Cándida albicans*. Es el medio selectivo recomendado por el Laboratorio de Análisis Clínico y Bacteriológico de la Facultad de Química de la Universidad Central del Ecuador.

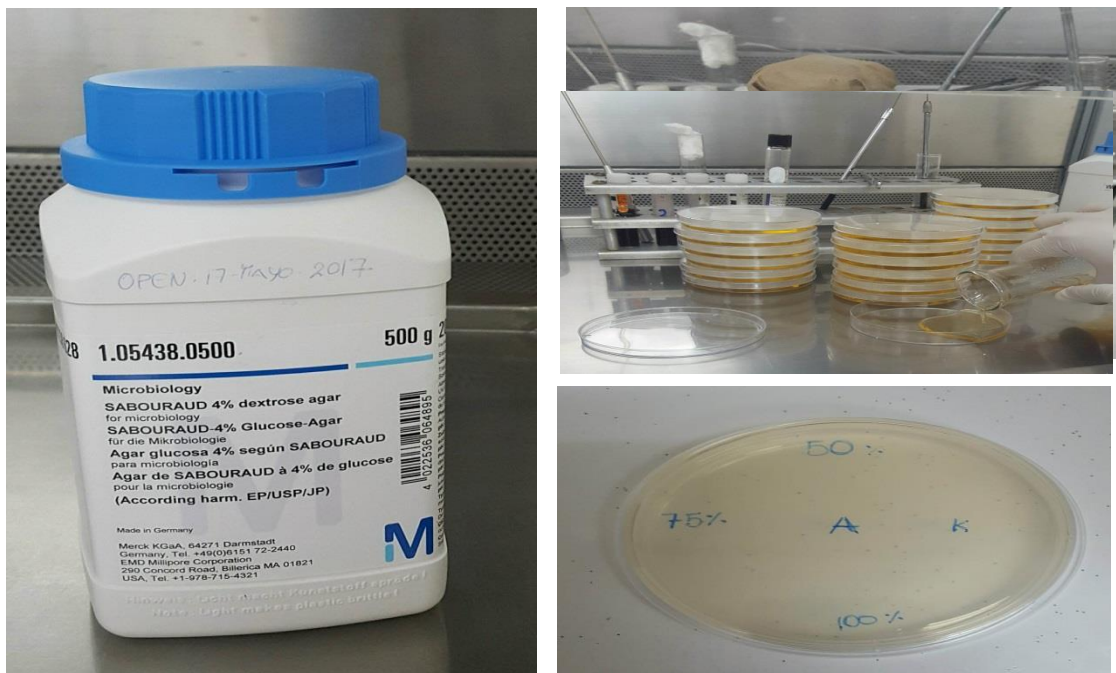


Figura 6. Colocación del medio de cultivo Agar Dextrosa Sabouraud 4% Merck sobre discos Petri.

Elaboración: Laboratorio de Análisis Clínico y Bacteriológico de la Facultad de Química de la Universidad Central del Ecuador.

Fecha: 04/12/2017 **Fuente:** Vallejo Salazar Marilú Jhoselin

3.6.4 Activación de la cepa *Cándida Albicans* ATCC® 10231™

La cepa de *Cándida albicans* ATCC® 10231™ fue importada en rigurosas condiciones de temperatura, en estado de liofilización en su envase KWIK-STIK™. (VER ANEXO 10)

Para activar la cepa se procedió a retirarla de refrigeración y dejar que se equilibre a temperatura ambiente por 20 minutos, y posteriormente se siguió las recomendaciones de apertura y uso con aproximadamente 10 pasos propuestas por el fabricante. (VER ANEXO 11)

Las mismas que subsiguiente fueron incubadas a temperatura 35°C por 48 horas en el Laboratorio de Análisis Clínico y Bacteriológico de la Facultad de Química de la Universidad Central del Ecuador.



Figura 7. Activación de la cepa *Cándida albicans* ATCC® 10231™
Elaboración: Laboratorio de Análisis Clínico y Bacteriológico de la Facultad de Química de la Universidad Central del Ecuador.
Fecha: 04/12/2017 **Fuente:** Vallejo Salazar Marilú Jhoselin

3.6.5 Patrón de turbidez McFarland

Se utilizó como referencia la estandarización de turbidez de 0,5 McFarland y se comparó visualmente con el caldo del inóculo previamente elaborado con la cepa *Cándida albicans* ATCC® 10231™ para determinar que la cantidad de bacterias por mililitro esté dentro de los índices preestablecidos. Se obtuvo una escala de 1.5×10^9 u.f.c./ml de *Cándida albicans* ATCC® 10231™.

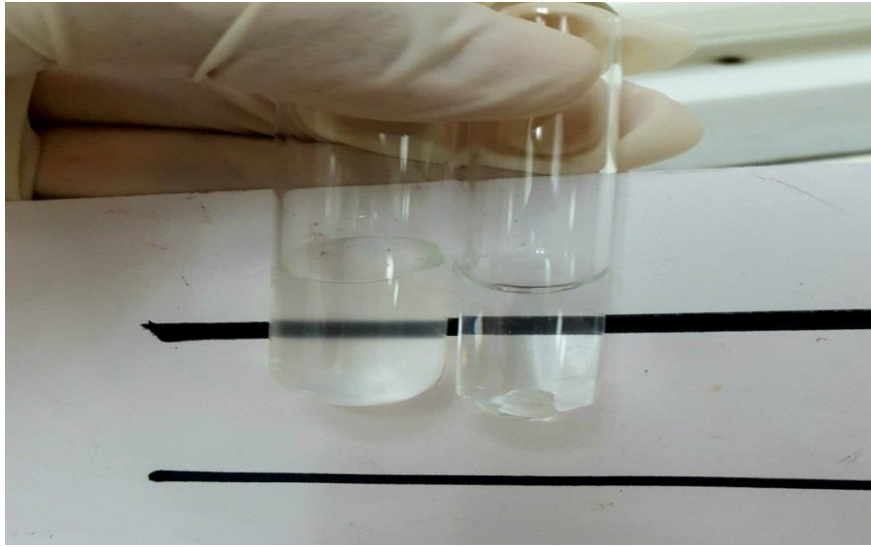


Figura 8. Comparación del caldo inóculo con el patrón estándar McFarland.
Elaboración: Laboratorio de Análisis Clínico y Bacteriológico de la Facultad de Química de la Universidad Central del Ecuador.
Fecha: 04/12/2017 **Fuente:** Vallejo Salazar Marilú Jhoselin

3.6.6 Inoculación bacteriana

Se procedió a dispersar el contenido fúngico del tubo de ensayo sobre el medio de cultivo Sabouraud Dextrosa 4% Merck localizado en las cajas Petri, previamente realizado la estandarización McFarland, mediante un hisopo estéril el cuál fue presionado sobre las paredes del mismo para reducir excesos. La siembra se realizó en diferentes direcciones con la finalidad de esparcir sobre toda la superficie de la placa la levadura.

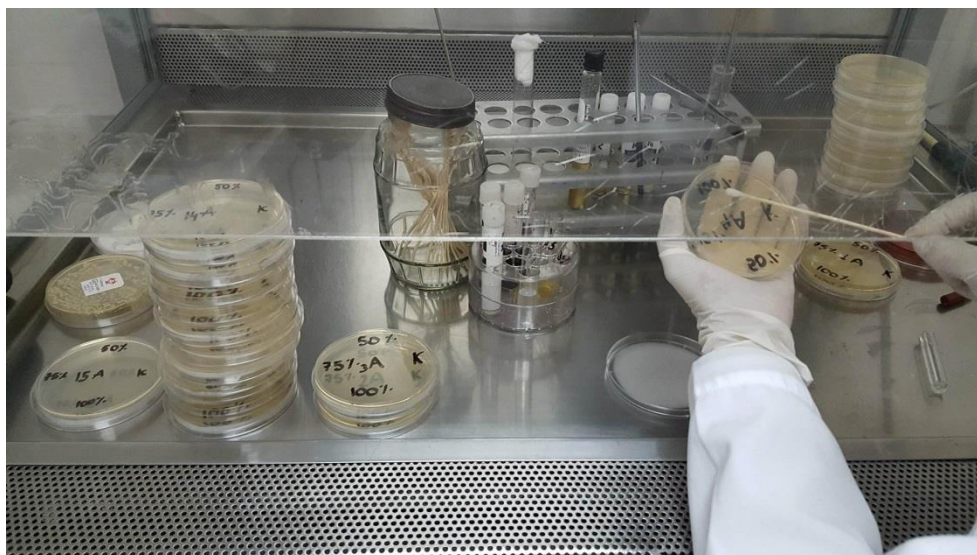


Figura 9. Inoculación bacteriana en el medio de cultivo.

Elaboración: Laboratorio de Análisis Clínico y Bacteriológico de la Facultad de Química de la Universidad Central del Ecuador.

Fecha: 04/12/2017 **Fuente:** Vallejo Salazar Marilú Jhoselin

3.6.7. Colocación de las diluciones sobre discos blancos

Se colocó 20 microlitros de la diluciones (50%, 75% y 100%) sobre cada disco de papel con la ayuda de una pipeta. En cada caja Petri se ubicó un disco de control positivo Nistatina 30 mg/ml y ketoconazol 15mg/ml, y un disco para control negativo con agua destilada.

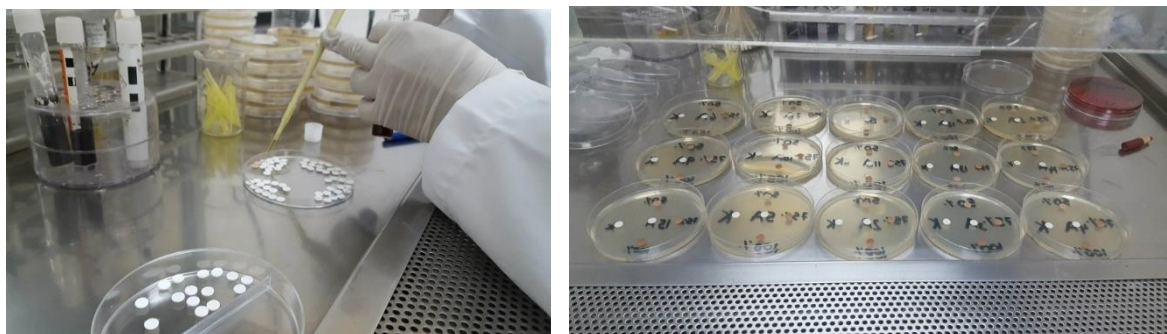


Figura 10. Discos blancos embebidos con el extracto y colocados en las cajas Petri.

Elaboración: Laboratorio de Análisis Clínico y Bacteriológico de la Facultad de Química de la Universidad Central del Ecuador.

Fecha: 04/12/2017 **Fuente:** Vallejo Salazar Marilú Jhoselin

3.6.8 Incubación de colonias fúngicas

Se colocó las 15 cajas Petri en la incubadora a temperatura 35°C para su posterior desarrollo.

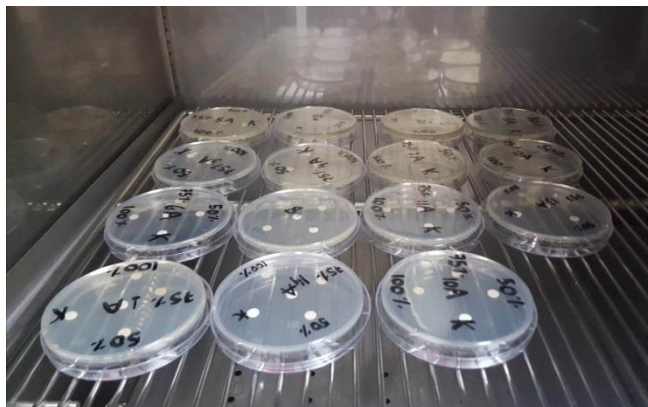


Figura 11. Colocación cajas Petri en la incubadora por un periodo de 24 y 48 horas.

Elaboración: Laboratorio de Análisis Clínico y Bacteriológico de la Facultad de Química de la Universidad Central del Ecuador.

Fecha: 04/12/2017 **Fuente:** Vallejo Salazar Marilú Jhoselin

3.6.9 Medición de las zonas de inhibición

Se procedió a medir los halos de inhibición a las 24 y 48 horas posterior a su incubación, se utilizó una regla milimetrada Merck Sharp & Dohme y un contador de colonias tipo Quebec. Se detallan los resultados en el capítulo IV.



Figura 12. Contador de colonias tipo Quebec®

Elaboración: Laboratorio de Análisis Clínico y Bacteriológico de la Facultad de Química de la Universidad Central del Ecuador.

Fecha: 06/12/2017 **Fuente:** Vallejo Salazar Marilú Jhoselin

3.7. Manejo, bioseguridad y protección

Todo el proceso experimental se realizó dentro de la cámara de flujo laminar, que es un equipo diseñado para filtrar el aire contaminado y emitir aire limpio en cada momento mientras dura el proceso de manipulación. El objetivo de trabajar dentro de ésta cabina fue evitar respirar partículas de bacterias que afecten la salud, el medio ambiente y evitar a toda escala que las muestras elaboradas se contaminen.



Figura 14. Cámara de flujo laminar tipo II.

Elaboración: Laboratorio de Análisis Clínico y Bacteriológico de la Facultad de Química de la Universidad Central del Ecuador.

Fecha: 06/12/2017 **Fuente:** Vallejo Salazar Marilú Jhoselin

3.8 Eliminación de desechos

Toda caja Petri, tubos de ensayo e hisopos que fueron utilizados durante el proceso de la investigación fueron clasificados y llevados a un autoclave específico para procesar material contaminado por alrededor de 30 minutos a 134°C, 1,1 atmósferas de presión, el paso final después del enfriamiento por alrededor de 30min es colocar en fundas rojas rotuladas, pesar, fechar y enviar al Depósito final de Desechos de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central. La empresa que retira los desechos infecciosos de la Universidad es la empresa “EMGIRS-EP”. Toda información adicional en base al manejo de material infeccioso fue proporcionada por el laboratorio de análisis clínico y bacteriológico. (VER ANEXO 15)



Figura 15. Autoclave derecha esteriliza material contaminado antes de su proceso final de eliminación. Autoclave izquierda esteriliza material previo a su uso.

Elaboración: Laboratorio de Análisis Clínico y Bacteriológico de la Facultad de Química de la Universidad Central del Ecuador.

Fecha: 08/12/2017 **Fuente:** Vallejo Salazar Marilú Jhoselin

3.9 Métodos de recolección de datos

La información obtenida en el proceso experimental fue certificada por el Laboratorio de análisis clínico y bacteriológico de la Facultad de Química.

Para obtener los resultados y su posterior análisis estadístico se utilizaron programas como Excel, Excel gráficos, y un software SPSS 22.

CAPITULO IV

4. RESULTADOS

El objetivo de la investigación fue analizar la actividad antimicrobiana que podría producir el extracto hidroalcohólico de la planta *Cassia reticulata* sobre cepas de *Cándida albicans*, para esto se llevó a cabo un proceso experimental en el que se midió en milímetros las zonas de inhibición capaces de ser creados por el extracto en mención sobre el fúngico, la técnica utilizada fue de difusión en agar, y los resultados fueron avalados por profesionales especialistas. (VER ANEXO 13).

ACTIVIDAD INHIBITORIA CASSIA RETICULATA						
	50%	75%	100%	NISTATINA	KETOCONAZOL	AGUA DESTILADA
REPETICIÓN	HALOS INHIBITORIOS mm					
1	6	7	11	25	12	6
2	6	7	10	26	10	6
3	6	8	12	25	7	6
4	6	7	12	25	8	6
5	6	8	11	27	7	6
6	6	8	10	26	10	6
7	6	8	11	25	8	6
8	6	7	11	26	8	6
9	6	8	12	27	8	6
10	6	8	12	27	10	6
11	6	7	11	26	10	6
12	6	7	11	27	10	6
13	6	8	10	25	10	6
14	6	7	12	27	10	6
15	6	7	10	25	8	6

Tabla 1. Resultados inhibición

Fecha: 13/01/2018

Fuente: Vallejo Salazar Marilú Jhoselin

4.1 Análisis estadístico

Las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y de Shapiro–Wilk (menor a 20 datos), nos ayudan a verificar que las muestras provienen de una población con distribución **normal**. Si las muestras son positivas a distribución normal se realizarán pruebas paramétricas de ANOVA o T student. Si las muestras son negativas a distribución normal se realizaran pruebas no paramétricas de Whitney, Kruskal Wallis, Wilcoxon o Mann.

HIPÓTESIS A DEMOSTRAR:

Ho: Las muestras provienen de poblaciones con distribución Normal

Ha: Las muestras NO provienen de poblaciones con distribución Normal

Cada prueba de hipótesis se comparará con el **valor de significación (Sig)**, con el valor 0,05 (porcentaje de confiabilidad de 95%).

Si: **Sig** es > a 0,05 **Ho** son similares.

Si: **Sig** es < a 0,05 **Ha** no son similares.

ADVERTENCIAS						
EXTRACTO 50% es constante.						
AGUA DESTILADA es constante.						
PRUEBAS DE NORMALIDAD						
	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	Gl	Sig.	Estadístico	Gl	Sig.
EXTRACTO 75%	0,350	15	0,000	0,643	15	0,000
EXTRACTO 100%	0,212	15	0,068	0,817	15	0,006
NISTATINA	0,255	15	0,010	0,782	15	0,002
KETOCONAZOL	0,275	15	0,003	0,856	15	0,021

Tabla 2. Pruebas de normalidad

Fecha: 11/01/2018

Fuente: Vallejo Salazar Marilú Jhoselin

Elaboración: Ing. Jaime Molina

Interpretación:

En la prueba de Normalidad de Shapiro-Wilk, los valores de **SIG** son $< 0,05$ (95% de confiabilidad), por tanto se acepta H_0 : NO provienen de poblaciones con distribución Normal. Se realizan pruebas paramétricas.

Comparación entre todas las sustancias.

DESCRIPTIVOS						
HALOS mm						
	N°	Media	Desviación estándar	Error estándar	Mínimo	Máximo
EXTRACTO 50%	15	6,00	0,000	0,000	6	6
EXTRACTO 75%	15	7,47	0,516	0,133	7	8
EXTRACTO 100%	15	11,07	0,799	0,206	10	12
NISTATINA	15	25,93	0,884	0,228	25	27
KETOCONAZOL	15	9,07	1,438	0,371	7	12
AGUA DESTILADA	15	6,00	0,000	0,000	6	6
TOTAL	90	10,92	7,024	0,740	6	27

Tabla 3. Pruebas no paramétricas Kruskal Wallis

Fecha: 11/01/2018

Fuente: Vallejo Salazar Marilú Jhoselin **Elaboración:** Ing. Jaime Molina

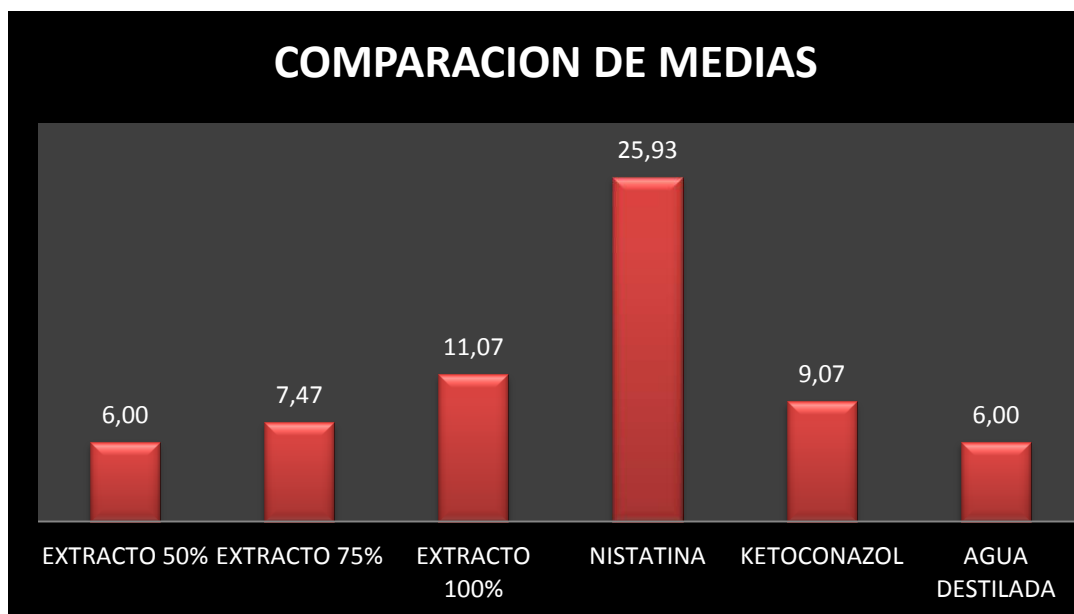


Figura 16. Pruebas no paramétricas Kruskal Wallis

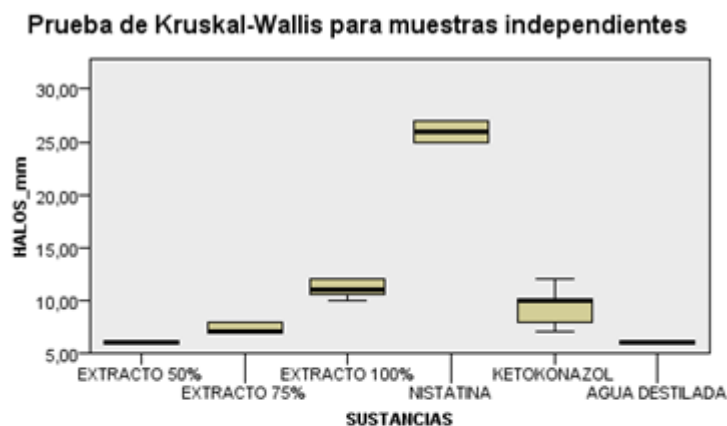
Fecha: 11/01/2018

Fuente: Vallejo Salazar Marilú Jhoselin **Elaboración:** Ing. Jaime Molina

Interpretación:

En la gráfica se observa que la media de la muestra de NISTATINA (25,93 mm) es la que tiene el valor más alto, muy por debajo esta la media del EXTRACTO AL 100% con una media de 11,07 mm, similar valor tiene el KETOCONAZOL con una media de 9,07 mm, le sigue el extracto al 75% con una media de 7,47mm, al final están el extracto al 50% y el agua destilada con una media de 6 mm.

Para determinar si existen diferencias significativas entre las muestras se realiza la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis:



N total	90
Estadístico de contraste	85,116
Grados de libertad	5
Significación asintótica (prueba bilateral)	,000

1. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.

Tabla 4. Prueba no paramétrica Kruskal Wallis

Fecha: 11/01/2018

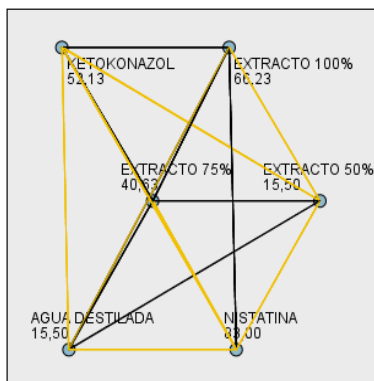
Fuente: Vallejo Salazar Marilú Jhoselin **Elaboración:** Ing. Jaime Molina

Interpretación:

De la Prueba de Kruskal-Wallis, el valor del nivel de significación (Sig. asintótica (prueba bilateral) = 0,000) es inferior a 0,05 (95% de confiabilidad), luego se acepta H_a , esto es, existen diferencias respecto a la tendencia central de las poblaciones. No todas las medias de las muestras son similares.

Para determinar cuáles son similares o diferentes se hace la prueba dos a dos:

Comparaciones por parejas de SUSTANCIAS



Cada nodo muestra el rango promedio de muestra de SUSTANCIAS.

Muestra 1-Muestra 2	Estadístico de prueba	Estándar Error	Desv. Estadístico de prueba	Sig.	Sig. ajust.
EXTRACTO 50%-AGUA DESTILADA	,000	9,329	,000	1,000	1,000
EXTRACTO 50%-EXTRACTO 75%	-25,133	9,329	-2,694	,007	,106
EXTRACTO 50%-KETOKONAZOL	-36,633	9,329	-3,927	,000	,001
EXTRACTO 50%-EXTRACTO 100%	-50,733	9,329	-5,438	,000	,000
EXTRACTO 50%-NISTATINA	-67,500	9,329	-7,236	,000	,000
AGUA DESTILADA-EXTRACTO 75%	25,133	9,329	2,694	,007	,106
AGUA DESTILADA-KETOKONAZOL	36,633	9,329	3,927	,000	,001
AGUA DESTILADA-EXTRACTO 100%	50,733	9,329	5,438	,000	,000
AGUA DESTILADA-NISTATINA	67,500	9,329	7,236	,000	,000
EXTRACTO 75%-KETOKONAZOL	-11,500	9,329	-1,233	,218	1,000
EXTRACTO 75%-EXTRACTO 100%	-25,600	9,329	-2,744	,006	,091
EXTRACTO 75%-NISTATINA	-42,367	9,329	-4,541	,000	,000
KETOKONAZOL-EXTRACTO 100%	14,100	9,329	1,511	,131	1,000
KETOKONAZOL-NISTATINA	30,867	9,329	3,309	,001	,014
EXTRACTO 100%-NISTATINA	-16,767	9,329	-1,797	,072	1,000

Cada fila prueba la hipótesis nula hipótesis nula de que las distribuciones de la muestra 1 y la muestra 2 son iguales. Se muestran las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significancia es ,05.

Tabla 5. Comparación por pareja de sustancias

Fecha: 11/01/2018

Fuente: Vallejo Salazar Marilú Jhoselin **Elaboración:** Ing. Jaime Molina

Interpretación:

Son similares (Sig. mayores a 0,05)

- EXTRACTO 50% es similar al AGUA DESTILADA ($p=1,00$)
- EXTRACTO 75% es similar al KETOCONAZOL ($p=0,218$)
- KETOCONAZOL es similar al EXTRACTO 100% ($p=0,131$)
- EXTRACTO 100% es similar a la NISTATINA ($p=0,072$)

NO son similares (Sig. menores a 0,05)

- EXTRACTO 50% no es similar al EXTRACTO 75% ($p=0,007$)
- EXTRACTO 50% es similar al KETOCONAZOL ($p=0,000$)
- EXTRACTO 50% no es similar al EXTRACTO 100% ($p=0,000$)
- EXTRACTO 50% no es similar a la NISTATINA ($p=0,000$)
- AGUA DESTILADA no es similar al EXTRACTO 75% ($p=0,007$)
- AGUA DESTILADA no es similar al KETOCONAZOL ($p=0,000$)
- AGUA DESTILADA no es similar al EXTRACTO 100% ($p=0,000$)
- AGUA DESTILADA no es similar a la NISTATINA ($p=0,000$)
- EXTRACTO 75% no es similar al EXTRACTO 100% ($p=0,006$)
- EXTRACTO 75% no es similar a la NISTATINA ($p=0,000$)
- KETOCONAZOL no es similar a la NISTATINA ($p=0,001$)

Dentro de los resultados se observa que el EXTRACTO 75% es similar al KETOCONAZOL ($p=0,218$), que el KETOCONAZOL es similar al EXTRACTO 100% ($p=0,131$) y que el EXTRACTO 100% es similar a la NISTATINA ($p=0,072$).

Para verificar si esta situación es debida a que se compara todos contra todos, se hace pruebas separadas dos a dos: Mann - Whitney.

- Prueba de Mann- Whitney: Extracto 75% es similar al ketoconazol ($p=0,218$)

ESTADÍSTICOS DE PRUEBA	
	HALOS (mm)
U de Mann-Whitney	39,500
W de Wilcoxon	159,500
Z	-3,215
Sig. asintótica (bilateral)	0,001

Tabla 6. Prueba Mann-Whitney extracto 75% similar ketoconazol
Fecha: 11/01/2018 **Fuente:** Vallejo Salazar Marilú Jhoselin
Elaboración: Ing. Jaime Molina

Interpretación:

De la Prueba de Mann Whitney, el valor del nivel de significación (Sig. asintótica (prueba bilateral) = 0,001) es inferior a 0,05 (95% de confiabilidad), luego se acepta H_a , esto es, existen diferencias respecto a la tendencia central de las poblaciones. Las medias, medianas no son similares, mayores valores tiene el KETOCONAZOL.

- Prueba de Mann-Whitney: KETOCONAZOL es similar al EXTRACTO 100% ($p=0,131$).

ESTADÍSTICOS DE PRUEBA	
	HALOS (mm)
U de Mann-Whitney	26,500
W de Wilcoxon	146,500
Z	-3,697
Sig. asintótica (bilateral)	0,000

Tabla 7. Prueba Mann-Whitney ketoconazol similar extracto 100%
Fecha: 11/01/2018 **Fuente:** Vallejo Salazar Marilú Jhoselin
Elaboración: Ing. Jaime Molina

Interpretación:

De la Prueba de Mann Whitney, el valor del nivel de significación (Sig. asintótica (prueba bilateral) = 0,000) es inferior a 0,05 (95% de confiabilidad), luego se acepta H_a , esto es, existen diferencias respecto a la tendencia central de las poblaciones. Las medias, medianas no son similares, mayores valores tiene el EXTRACTO 100%.

- Prueba de Mann-Whitney: EXTRACTO 100% es similar a la NISTATINA ($p=0,072$)

Estadísticos de prueba	
	HALOS (mm)
U de Mann-Whitney	0,000
W de Wilcoxon	120,000
Z	-4,735
Sig. asintótica (bilateral)	0,000

Tabla 8. Prueba Mann-Whitney extracto 100% similar nistatina

Fecha: 11/01/2018 **Fuente:** Vallejo Salazar Marilú Jhoselin

Elaboración: Ing. Jaime Molina

Interpretación:

De la Prueba de Mann Whitney, el valor del nivel de significación (Sig. asintótica (prueba bilateral) = 0,000) es inferior a 0,05 (95% de confiabilidad), luego se acepta H_a , esto es, existen diferencias respecto a la tendencia central de las poblaciones. Las medias, medianas no son similares, mayores valores tiene NISTATINA.

De las tres demostraciones dos a dos, se observa que **ninguna de las muestras son similares**, los mayores valores tiene la NISTATINA con una media de 25,93mm, le sigue muy por debajo el EXTRACTO al 100% con una media de 11,07, a continuación el KETOCONAZOL con una media de 9,07 y luego le sigue el EXTRACTO al 75% con una media de 7,47. Son similares únicamente entre el EXTRACTO al 50% y el AGUA DESTILADA

CAPITULO V

5. Discusión

La planta ha sido investigada científicamente en el campo de la salud por una sola ocasión, para la cual tomaremos referencia de éste único artículo sobre la planta *Cassia reticulata* para posibles comparaciones de datos.

En la presente investigación se buscó determinar la posibilidad de que una planta presente en el Ecuador, y de la que no se tiene evidencias de ningún estudio en el país, pueda mostrar un efecto antimicrobiano sobre un patógeno importante en cavidad oral como es la *Cándida Albicans*, para la cual, se realizó un estudio experimental, con la técnica de difusión en disco, y al análisis de resultados indicó que, dependiendo la concentración aplicada, sí posee efecto inhibitorio sobre el hongo.

La eficiencia del extracto hidroalcohólico de la planta *Cassia reticulata* sobre *Cándida albicans*, fue comprobada en un estudio por la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima-Perú, los cuales utilizaron métodos distintos para llegar a un mismo fin, como la utilización de Dimetilsulfóxido (DMSO) que es un disolvente orgánico sobre el extracto hidroalcohólico. En nuestra investigación se realizó solo con sustancia hidroalcohol, obteniendo como resultado un efecto positivo de inhibición. (30).

Ruiz et al. 2009 (30) en su estudio concluyeron que al utilizar el extracto de la planta *Cassia reticulata* sobre hidroalcohol puede lograrse zonas de inhibición sobre *Cándida albicans* en la realización de su prueba experimental in vitro. Los resultados en mención se correlacionan a nuestra investigación, ya que el extracto si detuvo el crecimiento fúngico, dependiendo la concentración a la que fue expuesta.

Ruiz et al. 2009. (30) mencionan que el extracto hidroalcohólico de la planta *Cassia reticulata* inhibe *Cándida albicans* por halos mayores a los 18 mm, lo que discrepa de la investigación presente, ya que la concentración de 100% tuvo la mayor zona de inhibición en 12mm existiendo una diferencia de aproximadamente 5mm.

En la investigación se realizaron tres distintas concentraciones 50%,75% y 100% del extracto hidroalcohólico teniendo como desarrollo inhibitorio valores promedio de 6mm, 7mm y 11mm respectivamente, mientras que, en el estudio de Ruiz et al. 2009 (30). Se realizó con una única concentración del 100% obteniendo valores mayores o iguales a 18mm de inhibición frente a *Cándida Albicans*, pero, en todo momento intervino Dimetilsulfóxido en su proceso. En nuestro estudio únicamente se utilizó hidroalcohol. Por lo tanto, cabe mencionar la diferencia en el estudio.

Mencionan en su estudio Ruiz et al. 2009. (30) que, las concentraciones de nistatina al 0,2mg/ml obtuvieron inhibición de 37mm frente a *Cándida* siempre y cuando estén disueltas en Dimetilsulfóxido. Nuestra investigación no utilizó disolvente orgánico Dimetilsulfóxido frente a nistatina, únicamente utilizamos nistatina en concentración de 30mg/ml y el valor promedio de inhibición fue de 26mm frente a *Cándida Albicans*. Razón por la cual el estudio varía.

De igual manera, mencionan en su estudio Ruiz et al. 2009. (30). que, las concentraciones de ketoconazol al 0,2mg/ml obtuvieron inhibición de 26 mm frente a *Cándida* siempre y cuando estén disueltas en Dimetilsulfóxido. Nuestra investigación no utilizó disolvente orgánico Dimetilsulfóxido frente a ketoconazol, únicamente utilizamos ketoconazol en concentración de 15mg/ml y el valor promedio de inhibición de nuestro estudio fue de 9mm frente a *Cándida Albicans*. Razón por la cual el estudio es diferente en este aspecto.

La presencia de Dimetilsulfóxido en su estudio, la localización de la especie en Iquitos-Perú con 20% de humedad más que en Arenillas-El Oro, Ecuador, 66% humedad. La localización sobre el nivel del mar. Pueden ser factores que arrojan resultados distintos. La combinación de la planta con Dimetilsulfóxido produce inhibición de *Cándida albicans* en mayor escala que al no usar éste disolvente orgánico, por lo que los datos son variables en cuanto a inhibición.

De ésta manera, con los datos obtenidos en nuestra investigación experimental, y las variaciones que hemos encontrado al comparar con los estudios realizados sobre ésta planta, se puede señalar que la Planta *Cassia reticulata* en sus diferentes concentraciones obtenidas si posee un efecto antifúngico sobre *Cándida albicans*, por lo que no se descarta estudios posteriores en los que se incluya DMSO, concentraciones mayores del extracto, obtención de aceites o esencias del mismo para poder hacer más comparaciones e investigaciones, ya que es una planta que se localiza en Ecuador, y no se le ha dado ningún uso hasta la presente fecha.

6. Conclusiones

- El extracto hidroalcohólico de la planta *Cassia reticulata* a concentraciones del 100% presentó actividad antimicrobiana in vitro sobre *Cándida albicans* con un promedio de halos de inhibición de 11mm.
- El extracto hidroalcohólico de la planta *Cassia reticulata* a concentraciones del 75% presentó actividad antimicrobiana in vitro sobre *Cándida albicans* con un promedio de halos de inhibición de 7 mm.
- El extracto hidroalcohólico de la planta *Cassia reticulata* a concentraciones del 50% no presentó actividad antimicrobiana in vitro sobre *Cándida albicans*.
- La nistatina presentó halos de inhibición in vitro por un promedio de 26 mm frente a *Cándida albicans*.
- Ketoconazol presentó halos de inhibición in vitro por un promedio de 9 mm frente a *Cándida albicans*.
- *Cándida albicans* demostró ser sensible al extracto hidroalcohólico in vitro de la planta *Cassia reticulata* en concentraciones del 75% y 100%, no obstante, presentó mayor sensibilidad frente a la nistatina 30mg/ml.

7. Recomendaciones

- Se sugiere nuevos proyectos de estudios dónde se utilice Dimetilsulfóxido como agente orgánico disolvente a las mismas concentraciones de 50%, 75% y 100% para poder determinar cuáles son las semejanzas o las diferencias al utilizarlo.
- Se recomienda analizar la actividad antimicrobiana de la planta *Cassia reticulata* en extractos, esencias o aceites frente a otros microorganismos causantes de infecciones orales.
- Por su efecto antimicrobiano, se sugiere investigaciones junto a medicamentos naturales ya existentes en el mercado para saber si puede actuar como potenciador de medicamentos antifúngicos orales.
- Se recomienda realizar una experimentación del extracto hidroalcohólico de la planta fresca versus la planta seca, para saber si varía los resultados.
- Promover el uso de ésta planta con propiedades eficientes en el campo de la odontología.
- Incentivar para que estudiantes realicen estudios posteriores a fin de experimentar y descubrir si la planta puede actuar con diferentes microorganismos que se localizan en boca, a fin de encontrar soluciones a patologías estomatológicas.

8. BIBLIOGRAFIA

1. Matera S, Ragone M, Consolini A. Farmacología Experimental de plantas medicinales y fitoterapia: enseñanza del método científico a estudiantes de farmacia. In IV JORNADAS DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EDUCATIVA EN EL CAMPO DE LAS CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES; 2015; La Plata.
2. Castro I. Actualidad de la medicina tradicional herbolaria. Scielo Cuba. 2006 abril-junio; xi(2).
3. Ramírez A, Isaza G. Especies vegetales investigadas por sus actividades antimicrobianas, inmunomoduladores e hipoglicemiantes en el departamento de Caldas, Colombia, Sudamérica. Scielo Colombia. 2013; XII(1).
4. Stella L, G I, Acosta S. Estudio preliminar de los efectos hipoglicemiantes de *Senna reticulata* en ratas diabéticas. BIOSALUD. 2009 ENERO-DICIEMBRE; VIII(1).
5. Organización Mundial de la Salud (OMS). Pautas generales metodológicas de investigación y evaluación de la medicina tradicional. Hong Kong;; 2013. Report No.: 978 924 3506098.
6. Instituto Nacional de estadísticas y censos. Ecuador en Cifras. Quito;; 2017.
7. Hernández L, Rodríguez M. Actividad Antimicrobiana de plantas que crecen en Cuba. Scielo Cuba. 2001 Mayo-Agosto; 2001(2).
8. Nunes Do Santos R, Vasconcelos M, Braz R. Los componentes químicos del tallo *Senna Reticulata* (leguminosae). Scielo. 2008; 31(8).
9. Negroni M. Microbiología Estomatológica Buenos Aires: Ed Médica Panamericana; 2009.
10. Sapp P, Eversole W. Patología Oral y Maxilofacial Madrid: Elsevier; 2005.
11. Mata de Henning M, Perrone M. La prótesis odontológica en la ecología de *Candida Albicans* en cavidad bucal. Acta Odontológica Venezolana. 2000; 3.
12. Nápoles I, Díaz S, Puig E, Espeso N. La candidiasis en pacientes con estomatitis subprótesis. Scielo. 2008 nov-dic; 12(6).
13. Panizo M, Reviakina V. *Candida Albicans* y su efecto patógeno sobre las mucosas. Scielo. 2001.
14. Newman M, Takei H, Klokkeyold P, Carranza F. Periodontología Clínica. Décima ed. México: Elsevier; 2010.
15. Barata D, Durán A, Carrillo S. Estomatitis protésica. UEM. 2002 Diciembre; 5(10): p. 622-627.

16. Lemus L, Del Valle O, Fuertes L, Sáez R. Rehabilitaciones protésica y cu calidad como factor de riesgo en la aprición de lesiones en la mucosa bucal. Scielo Cuba. 2009 enero-marzo; 46(1).
17. Soler B, Porto M. Experiencia Cubana en el estudio y aplicación de medicamentos herbarios. Scielo Cuba. 1997 enero-abril; 2(1).
18. Gómez R. Plantas medicinales en una aldea de Tabasco,Mexico. Scielo. 2012 enero-marzo; 35(1).
19. Parolin P. Senna reticulata (willd) h.s.irwin & banneby (fabacece) "matapasto",arbol pionero en las planicies inundables amazónicas. Scielo. 2005 diciembre; 4(1-2).
20. Cruz S, Mazón G. Microbiota de los ecosistemas de la cavidad bucal. Revista Cubana de Estomatología. 2017; 1(54).
21. Dewhirst F, Chen T, Paster B. The Human Oral Microbine Journal of Bacteriology. A SM. 2010; 19(192): p. 5002-5017.
22. Liébana U. Caracteristica Generales de los hongos Madrid: Mc Graw Hill; 2002.
23. Gregorí B. Esctructura y actividad d elos antifúngicos. Revista Cubana Farm. 2005; 2(39).
24. Modelo OMS de información sobre prescripción de medicamentos. Medicamentos utilizados en las enfermedades cutáneas Ginebra; 1999.
25. Lescano G PRLJ. Determinación de propiedades fisicoquímicas de Nistatina comercial empleando técnicas de caracterización de materiales.. Scielo. 2014 junio; 2(45).
26. Avello M, Cisternas I. Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile. 2010;(138): p. 1288-1293.
27. Torres V, Castro A. Fitoterapia. Revista de Actualización clínica. 2014;(42): p. 2184-2189.
28. Azuero A, Jaramillo C, San Martin D, D Armas H. Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador. Revista Ciencia UNEMI. 2016; 9(20).
29. Deslreal G, Martin G. (Senna reticulata):Pionera útil en el estableicmiento de sistemas silyopastoriles. Ganaderia Colombiana sostenible. 2016.
30. Ruiz J, Roque M. Actividad antimicrobiana de cuatro plantas de nor-orient peruano. Ciencia e Investigación UNMSM. 2009; 12(1).
31. Lescano G, Pettigrosso R, Llabot J. Determinación de propiedades fisicoquímicas de Nistasina comercial empleando técnicas de caracterización de materiales. 2014 Jun; 2(45).

ANEXOS

Anexo 1. Factura de autenticidad de compra cepa Cándida albicans ATCC® 10231™



IMPORTADOR - DISTRIBUIDOR
Proveedor Integral para Laboratorio
www.medibac.com medibac@medibac.com
ESTABLECIDOS EN 1991



MEDIBAC- INC S.A.
MATRIZ
Guayaquil - Enrique Ortega Moreira (Av. Las Aguas) 1111 y Laureles (Urdesa Central)
Teléfonos: (04) 288 1414 - 238 8597 - 288 1887
Celular: (09) 8574 8298
SUCURSAL MULTIPLE GUAYAQUIL
Victor Emilio Estrada # 916 e Ilares (Urdesa Central)
Tells: (04) 454 8929 - 463 2714 - 460 2999 - 461 2069
SUCURSAL QUITO
Av. República de El Salvador N34-399 e Irlanda. (La Carolina), Edificio Rosania, Planta Baja, Oficinas 4 y 6
Teléfonos: (02) 226 1478 - 246 6318
SUCURSAL PORTO VIEJO
Cda. Los Mangos calle Elías Cedeño E/ Bolívar Avila y Manuel Andrade, Piso 1. Tell: (05) 256 5182 Celular: (09) 5893 5253

R.U.C. 0992401494001

FACTURA

002-001- 000006934

Autorización S.R.I. 1121534523

FECHA DE AUTORIZACIÓN: 3/ OCTUBRE/2017

Documento Categorizado: NO

Cliente: VALLEJO SALAZAR MARILU JHOSELIN

Dirección: SECTOR SANTA RITA, CUBIJEES OE4-205 Y RUMICHA

R.U.C. / C.C.: 1714366471

Teléfono: 0998118236

Guía de Remisión:

Orden de Compra:

Asesor Comercial: CARMITA PAZMIÑO

Fecha de Emisión: 16/11/2017

Fecha de Vencimiento: 17/11/2017

Orden de Pedido: 19.989

CANT.	CÓDIGO	MARCA	DESCRIPCIÓN	PRECIO UNITARIO	PRECIO TOTAL
1	0443P-S		C. ALBICANS, ATCC 10231 (DUOPACK)	189,73	189,73
1	CT0998B	OXOID	BLANK CT998 OXOID L:2130497 EXP:2020-05-01	4,50	4,50
MISHELL CAROLINA CUASES 0401829486 					

FORMA DE PAGO OTROS 217,54

Son: **Doscientos Diecisiete Y 54 / 100 Dólares Americanos** Dólares

MEDIBAC INC S.A.

GABRIELA MANTILLA

Firma Autorizada

[Firma]

1714366471

Firma Cliente

FAVOR EMITIR CHEQUE CRUZADO A NOMBRE DE MEDIBAC INC S.A. DEBO Y PAGARÉ a la orden de MEDIBAC INC S.A. Declaro recibir la mercadería de esta FACTURA a mi entera conformidad; por lo tanto, DEBO Y PAGARÉ a la orden de MEDIBAC INC S.A. Esta factura de encontrarse vencida, al siguiente día devengará el máximo de INTERES POR MORA autorizado por la LEY, más todos los gastos de cobranzas ocasionados. En caso de juicio me sujetaré a los jueces competentes de la ciudad de Guayaquil y a la acción ejecutiva para lo cual renuncio a fuero y domicilio. PASADO LOS CINCO DIAS DE SALIDA LA MERCADERIA NO SE ACEPTAN DEVOLUCIONES.

SOLICITE SU RECIBO DE COBRO AL CANCELAR ESTA FACTURA

SUMAN \$	194,23
DESCUENTO	
BASE 0	0,00
BASE	194,23
I.V.A. 12 %	23,31
TOTAL \$	217,54

ORIGINAL: ADQUIRENTE // COPIA 1: EMISOR COPIA 2: S.R.I.

Anexo 2. Aprobación para el uso de los laboratorios de Ciencias Químicas.



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
UNIDAD DE GRADUACIÓN, TITULACIÓN E INVESTIGACION**

Oficio No. 01897 - 2017-CUTGI

Quito, D.M 15 de Noviembre del 2017

ASUNTO: USO LABORATORIO Y ASESORAMIENTO

Señora Doctora
ISABEL FIERRO
DECANA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
Presente

De mi consideración:

Solicito a usted de la manera más comedida permita acudir a la Institución que tan acertadamente dirige al(a) señor(ita) **VALLEJO SALAZAR MARILU JHOSELIN**, egresado(a) 2016-2016 de la Facultad de Odontología, para realizar el proyecto de investigación cuyo tema es: **"Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de la planta Cassia Reticulata sobre Cándida Albicans. Estudio in vitro"**. Para el efecto se requerirá el asesoramiento y la utilización de implementos del laboratorio. Requisito previo para la obtención del título de Odontólogo.

Favor considerar el respectivo descuento.

Por la favorable atención que se digne dar a la presente, anticipo mis agradecimientos,

Atentamente,


Dra. Karina Farfán
COORDINADORA UTGI

SB



Anexo 3. Certificado de Aprobación del SEISH-UCE.



436

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
SUBCOMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS

**EL SUBCOMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN EN SERES
HUMANOS DE LA UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
SEISH - UCE**

CERTIFICA:

Que conoció la evaluación realizada por el Comité de Ética de Investigación de la Facultad de Odontología al Protocolo de Investigación presentado por el (la) señor (ita), **Marilú Jhoselin Vallejo Salazar**, egresado (a) de Grado de la Facultad de Odontología, con el tema:

"Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de la planta cassia reticulata sobre candida albicans. Estudio In - Vitro."

Una vez analizados los fundamentos metodológicos, bioéticos y jurídicos del mencionado estudio, el Subcomité certifica la **VIABILIDAD ÉTICA**.

Quito, 14 de noviembre del 2017.

Dr. Fernando Salazar Manosalvas
PRESIDENTE



Dr. Patricio Pazán León
SECRETARIO

Germania R.

Dirección: Ciudadela Universitaria
Junto a Consejo Universitario

Teléfono: 2904-211 / 2902-192
E-mail: comite.etica@uce.edu.ec

Anexo 4. Idoneidad ética experticia del investigador principal



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**



IDONEIDAD ÉTICA Y EXPERTICIA DEL INVESTIGADOR

Quito, 23 de Octubre de 2017

Yo, **MARILÚ JHOSELIN VALLEJO SALAZAR C.I 171436647-1**, declaro no tener experiencias previas en otras investigaciones afines o anteriores a ésta, además debo aclarar que dentro de mi formación académica recibí las cátedras de Metodología de la investigación, Histología, Patología Oral, materias que se encuentran relacionadas con ésta investigación y representan una base fundamental en la estructura de éste estudio, para lograr los objetivos planteados.

Es todo cuánto puedo certificar en honor a la verdad.

Atentamente:

.....


Marilú Jhoselin Vallejo Salazar

C.I 171436647-1

Anexo 5. Idoneidad ética experticia del tutor



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE ODONTOLÓGIA



IDONEIDAD ÉTICA Y EXPERTICIA DEL TUTOR

Quito, 23 de Octubre de 2017

Yo, **MARINA ANTONIA DONA VIDALE C.I 170888442-2**, en calidad de docente de la Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador y tutora de la investigación denominada **“Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de la planta Cassia reticulata sobre Cándida Albicans. Estudio In vitro”**, manifiesto que tengo idoneidad ética y profesional en temas afines a microbiología oral, docente ejecutante de Periodoncia. Por tanto declaro tener la experticia suficiente para tutorear ésta investigación.

Es todo cuánto puedo certificar en honor a la verdad.

Atentamente:


.....

Dra. Marina Antonia Dona Vidale

C.I 170888442-2

Anexo 6. Declaración de conflicto de intereses del investigador principal



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE ODONTOLOGIA



DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES

Quito, 23 de Octubre del 2017

Yo, **MARILÚ JHOSELIN VALLEJO SALAZAR** con C.I: 171436647-1, en calidad de la estudiante investigadora principal del tema: **“Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de la planta Cassia reticulata sobre Cándida Albicans. Estudio in vitro”**. Declaro no tener conflictos de intereses, ninguna relación económica, personal, familiar o filial, política de interés financiera con ninguna institución o empresa internacional o nacional. Declaro además no haber recibido ningún tipo de beneficio monetario, bienes, ni subsidios de alguna fuente que pudiera tener interés en los resultados de esta investigación.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad, particularmente pongo en conocimiento del comité del subcomité de ética de la Universidad Central del Ecuador para los fines pertinentes.

Atentamente

MARILÚ JHOSELIN VALLEJO SALAZAR
171436647-1

Anexo 7. Declaración de conflicto de intereses del tutor



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE ODONTOLOGIA



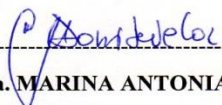
DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES

Quito, 23 de Octubre del 2017

Yo, **MARINA ANTONIA DONA VIDALE c.i. 170888442-2**, en calidad de tutor del proyecto de titulación: **“Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de la planta *Cassia reticulata* sobre *Cándida Albicans*. Estudio in vitro”**, declaro no tener conflictos de intereses, ninguna relación económica, personal, familiar o filial, política de interés financiera con ninguna institución o empresa internacional o nacional. Declaro además no haber recibido ningún tipo de beneficio monetario, bienes, ni subsidios de alguna fuente que pudiera tener interés en los resultados de esta investigación.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad, particularmente pongo en conocimiento del comité del subcomité de ética de la Universidad Central del Ecuador para los fines pertinentes.

Atentamente



Dra. MARINA ANTONIA DONA VIDALE
C.I 170888442-2

Anexo 8. Certificado de elaboración del extracto hidroalcohólico de la planta *Cassia reticulata*.

Quito, 10 de enero de 2018

A QUIEN INTERESE

Yo, Darwin Roldán Robles Bioquímico Farmacéutico con CC 1002174116.

CERTIFICO QUE:

Los extractos hidroalcohólico de *Cassia reticulata* que se utilizaron en el trabajo de tesis de la señorita Marilú Jhoselin Vallejo Salazar "**Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de la planta *Cassia reticulata* sobre *Candida albicans*. Estudio in vitro**" ; fueron elaborados bajo mi responsabilidad técnica, controlando los parámetros de calidad que este tipo de productos requieren.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad. La mencionada señorita puede hacer uso de este certificado como bien lo pareciere.

Atentamente


B.F. Darwin Roldán Robles. Msc.

CC 1002174116

Anexo 9. Análisis de las propiedades organolépticas y físicas del extracto hidroalcohólico de la planta *Cassia reticulata*.

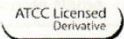
PREINFORME DE RESULTADOS
LABORATORIO DE QUÍMICA FARMACEÚTICA

SOLICITADO POR:	MARILÚ VALLEJO
DIRECCIÓN:	CUBIJES OE 4- 205 Y RUMICHACA
FECHA DE RECEPCIÓN:	2015 - 08 - 14
HORA DE RECEPCIÓN:	11.11
MUESTRA DE:	EXTRACTO
DESCRIPCIÓN:	EXTRACTO DE CASSIA RETICULATA
FECHA DE ANÁLISIS:	DEL 03 AL 17 /12/2017

PARÁMETRO	UNIDADES	I PURO	II 50 %	III 25%	METODO
ORGANOLÉPTICOS					
COLOR	N/A	AMARILLENTO	AMARILLENTO	AMARILLENTO	
OLOR	N/A	CARACTERÍSTICO	CARACTERÍSTICO	CARACTERÍSTICO	
ASPECTO	N/A	LIQUIDO HOMOGENO OLEOSO ALGO VISCOSO	LIQUIDO HOMOGENO OLEOSO ALGO VISCOSO	LIQUIDO HOMOGENO OLEOSO ALGO VISCOSO	
FÍSICOS					
pH		5.6	5.7	5.9	USP XXVI
DENSIDAD	g/ml	0.70	0.89	0.92	USP XXVI
INDICE REFRACCIÓN	DE	1.385	1.437	1.448	USP XXVI


B.F. DARWIN ROLDAN ROBLES
LABORATORIO DE QUÍMICA FARMACEÚTICA

Anexo 10. Certificado de calidad de la cepa *Cándida Albicans* ATCC® 10231™, adquirida a la empresa MEDIBAC.

			
Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release			
Specifications Microorganism Name: <i>Candida albicans</i> Catalog Number: 0443 Lot Number: 443-688 Reference Number: ATCC® 10231™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2018/12/31 Release Information: Quality Control Technologist: Christine Condon Release Date: 2017/1/23		
<table border="1"> <tr> <td> Macroscopic Features: Small to medium, white, circular, convex, dull colonies. Microscopic Features: Gram positive, ovoidal, budding yeast cells. ID System: MALDI-TOF See attached ID System results document. </td> <td> Performance Medium: Nutrient Method: Gram Stain (1) Other Features/ Challenges: Results (1) Germ Tube Test: positive (1) Chlamydospore production: positive  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE </td> </tr> </table>		Macroscopic Features: Small to medium, white, circular, convex, dull colonies. Microscopic Features: Gram positive, ovoidal, budding yeast cells. ID System: MALDI-TOF See attached ID System results document.	Performance Medium: Nutrient Method: Gram Stain (1) Other Features/ Challenges: Results (1) Germ Tube Test: positive (1) Chlamydospore production: positive  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
Macroscopic Features: Small to medium, white, circular, convex, dull colonies. Microscopic Features: Gram positive, ovoidal, budding yeast cells. ID System: MALDI-TOF See attached ID System results document.	Performance Medium: Nutrient Method: Gram Stain (1) Other Features/ Challenges: Results (1) Germ Tube Test: positive (1) Chlamydospore production: positive  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE		
Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number. Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods. Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information. Individual products are traceable to a recognized culture collection.  (*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC Microbiology, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures. (1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.  TESTING CERT #2655.01			

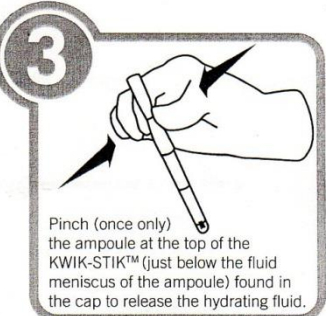
Anexo 11. Instrucciones de uso y activación de la cepa *Cándida Albicans*® 10231™.

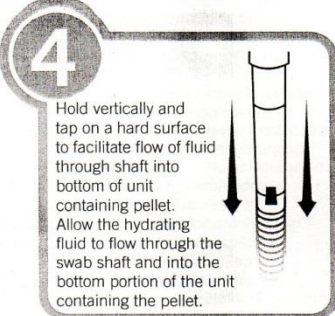
KWIK-STIK™ Instructions for Use

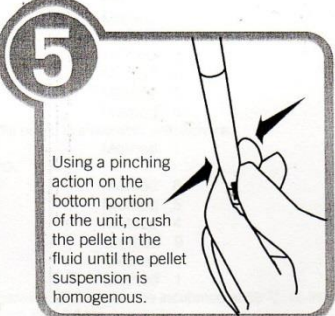
Please add the packaging option to the catalog number when placing an order: P = KWIK-STIK™ 2 Pack,
S = KWIK-STIK™ 10 Pack. Example: 0335P, 0335S

- 

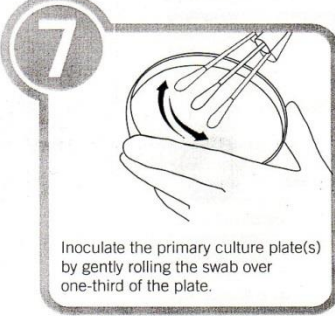
1 Allow the unopened KWIK-STIK™ pouch to equilibrate to room temperature. Tear open pouch at notch and remove the KWIK-STIK™ unit.
- 

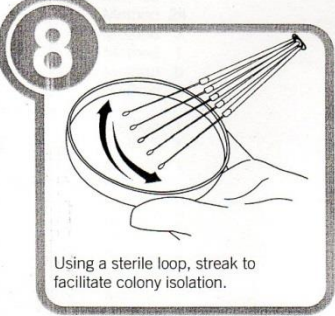
2 Tear off Pull-Tab portion on the label and attach it to the primary culture plate or QC record. Do not disassemble the device during hydration.
- 

3 Pinch (once only) the ampoule at the top of the KWIK-STIK™ (just below the fluid meniscus of the ampoule) found in the cap to release the hydrating fluid.
- 

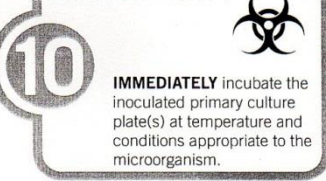
4 Hold vertically and tap on a hard surface to facilitate flow of fluid through shaft into bottom of unit containing pellet. Allow the hydrating fluid to flow through the swab shaft and into the bottom portion of the unit containing the pellet.
- 

5 Using a pinching action on the bottom portion of the unit, crush the pellet in the fluid until the pellet suspension is homogenous.
- 

6 **IMMEDIATELY** heavily saturate the swab with the hydrated material and transfer to agar medium.
- 

7 Inoculate the primary culture plate(s) by gently rolling the swab over one-third of the plate.
- 

8 Using a sterile loop, streak to facilitate colony isolation.
- 

9 Using proper biohazard disposal, discard the KWIK-STIK™.
- 

10 **IMMEDIATELY** incubate the inoculated primary culture plate(s) at temperature and conditions appropriate to the microorganism.

Visit www.microbiologics.com or call 320.253.1640 to place your order!

Anexo 12. Certificado de la realización de las pruebas bacteriológicas



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICO Y BACTERIOLÓGICO

CERTIFICADO

Certifico que la Señorita, VALLEJO SALAZAR MARILU JHOSELIN, con Cédula de Identidad No. 171436647-1, realizó las pruebas diagnósticas bacteriológicas en el Laboratorio Microbiológico de la Facultad de Ciencias Químicas, de la Universidad Central del Ecuador en conjunto con la Dra. Rachide Acosta, para el estudio de su tesis con el tema: "ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LA PLANTA CASSIA RETICULATA SOBRE CANDIDA ALBICANS". Dicho estudio fue realizado con las normas de calidad establecidas.

La mencionada señorita puede hacer uso de este documento como crea conveniente a sus intereses.

Quito, 21 de diciembre del 2017

Rachide Acosta

Dra. Rachide Acosta
JEFA DE LOS LABORATORIOS DE
ANÁLISIS CLÍNICO Y BACTERIOLÓGICO



Alexandra

Anexo 13. Certificado de los resultados del análisis inhibitorio

CLIENTE: MARILÚ JHOSELIN VALLEJO SALAZAR
 MUESTRA: EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE CASSIA RETICULATA
 FECHA DE ANÁLISIS: 2017/12/04



ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA PLANTA CASSIA RETICULATA SOBRE CÁNDIDA ALBICANS. ESTUDIO IN VITRO

CEPA DE ESTUDIO: CÁNDIDA ALBICANS
 ATCC 10231
 LOTE 433-688-2
 CADUCIDAD 31/12/2018

RESULTADOS

	EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE CASSIA RETICULATA			NISTATINA	KETOCONAZOL	AGUA DESTILADA
	50%	75%	100%			
REPETICIÓN	HALOS DE INHIBICIÓN (mm)					
1	6	7	11	25	12	6
2	6	7	10	26	10	6
3	6	8	12	25	7	6
4	6	7	12	25	8	6
5	6	8	11	27	7	6
6	6	8	10	26	10	6
7	6	8	11	25	8	6
8	6	7	11	26	8	6
9	6	8	12	27	8	6
10	6	8	12	27	10	6
11	6	7	11	26	10	6
12	6	7	11	27	10	6
13	6	8	10	25	10	6
14	6	7	12	27	10	6
15	6	7	10	25	8	6

VALORES DE SENSIBILIDAD AROMATOGRAMA (DURAFFOURD)

S. NULA < 8 mm
 S. LÍMITE 9-14 mm
 S. MEDIA 15-19 mm
 SUMAMENTE SENSIBLE > o = 20 mm

Rachide Acosta

DRA. RACHIDE ACOSTA



Anexo 14. Certificado de esterilización de los materiales



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICO Y BACTERIOLÓGICO

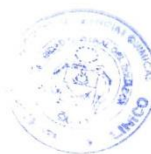
CERTIFICADO

El Laboratorio Clínico y Bacteriológico de la Facultad de Ciencias Químicas, de la Universidad Central del Ecuador, certifica que todo el material utilizado en la realización de las tesis de la Facultad de Odontología, es sometido a proceso de esterilización previo a su uso.

Quito, 21 de diciembre del 2017

Dra. Rachide Acosta
JEFA DE LOS LABORATORIOS DE
ANÁLISIS CLÍNICO Y BACTERIOLÓGICO

Alexandra



Anexo 15. Protocolo de manejo de desechos infecciosos



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICO Y BACTERIOLÓGICO

PROTOCOLO DE MANEJO DE DESECHOS INFECCIOSOS

- a) Los cultivos de agentes infecciosos y desechos biológicos, cajas Petri, placas de frotis y todos los instrumentos para manipular, mezclar o inocular microorganismos son recolectados en un recipiente específico rotulado y son llevados al "área de generación".
- b) Los desechos serán clasificados y separados, por los responsables en el área de generación.
- c) Las Cajas Petri, los tubos de ensayo de vidrio, Hisopos contaminados se colocaran en autoclave para el proceso de esterilización mediante la combinación de calor y presión proporcionada por el vapor de agua, en un tiempo determinado a 134° C, a 1,1 atmósferas por un periodo de 30 min.
- d) Se deja enfriar aproximadamente por 30 minutos.
- e) Las placas, portaobjetos y cubreobjetos, se deja en un recipiente de vidrio para su posterior descontaminación (hipoclorito 5.000 ppm durante 20 minutos), se lava con agua y detergente.
- f) Posterior a ello todo el material de desechos generado y previamente tratado se coloca en funda roja rotulada que contiene la siguiente información: contenido (cortopunzante, infeccioso), peso, fecha y persona responsable. Se realiza el traslado del material generado al cuarto de Depósito Final de Desechos de la Facultad de Ciencias químicas hasta su recolección.
- g) El personal responsable observando los lineamientos de bioseguridad correspondiente usa guantes, mascarilla, gorro, que posteriormente son desechados en fundas rojas.
- h) El manejo externo de desechos biológicos, es efectuado por la Empresa Pública Metropolitana Integral de Residuos Sólidos. "EMGIRS-EP", quienes trabajan conjuntamente con el laboratorio de la Facultad de Ciencias Químicas, y son los encargados de retirar del área de Depósito los desechos Infecciosos, biológicos y especiales.

Quito, 21 de diciembre del 2017

Rachide Acosta

Dra. Rachide Acosta
LABORATORIO CLÍNICO Y BACTERIOLÓGICO



Anexo 16. .Autorización para la eliminación de desechos infecciosos utilizados en la investigación



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICO Y BACTERIOLÓGICO

AUTORIZACIÓN

Se autoriza el uso de las instalaciones del depósito de desechos infecciosos del Laboratorio Clínico y Bacteriológico de la Facultad de Ciencias Químicas, para descartar los materiales contaminados que fueron utilizados en el proyecto de investigación: "ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LA PLANTA CASSIA RETICULATA SOBRE CANDIDA ALBICANS". Realizado por la señorita Marilú Jhoselin Vallejo Salazar.

Quito, 21 de diciembre del 2017

Rachide Acosta

Dra. Rachide Acosta
JEFA DE LOS LABORATORIOS DE
ANÁLISIS CLÍNICO Y BACTERIOLÓGICO



Alexandra

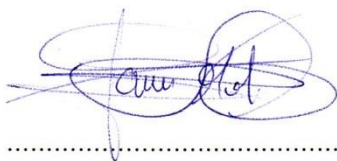
Anexo 17. Renuncia al trabajo estadístico

Quito, DM 11 de enero de 2018

A quien corresponda:

Yo, ING. JAIME MOLINA con CI. 1709175275, por el presente renuncio a todos los derechos de autor y propiedad intelectual relacionado al trabajo estadístico, análisis de resultados, matriz o variables realizado en el trabajo de titulado **“ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA PLANTA CASSIA RETICULATA. ESTUDIO IN VITRO.”**, de la señorita VALLEJO SALAZAR MARILÚ JHOSELIN ente como a bien tuviere.

Atentamente:



ING. JAIME MOLINA

CI. 1709175275

Anexo 18. Certificado URKUND-Antiplagio

17/1/2018 Urkund Report - TESIS ODONTOLOGIA2018.docx (D34759186) (2).pdf

URKUND

Urkund Analysis Result

Analysed Document: TESIS ODONTOLOGIA2018.docx (D34759186)
Submitted: 1/17/2018 2:40:00 AM
Submitted By: mdona@uce.edu.ec
Significance: 6 %

Sources included in the report:

tesis pablo espinoza 3era corrección.docx (D32986196)
TESIS PCMM.docx (D34701462)
listooooooooooooooooooooo termine.docx (D34473621)

Instances where selected sources appear:

14

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
ENTREGADO
FECHA 12-01-2018
FIRMA
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN GRADUACIÓN Y TITULACIÓN

Anexo 19. Certificado de traducción oficial

TOPIC: “Antimicrobial effect of the hydro-alcoholic extract of the *Cassia reticulata* plant on the *Candida Albicans*. In Vitro study”.

Author: Marilu Jhoselin Vallejo Salazar

Tutor: Dr. Marina Antonia Dona Vidale

ABSTRACT

There is scientific probe that the *Candida Albicans* is the most common fungus in the oral cavity, and it is characterized by being an opportunist and a relevant pathogen. It is why this study aims at seeking new alternatives, easy to obtain at a low cost, in order to treat oral pathologies through the use of the main components of medicinal plants. It was proposed to identify the antimicrobial activity of the hydro-alcoholic extract of the *Cassia reticulata* plant at 50%, 75% and 100% on strains of *Candida Albicans* ATCC® 10231™. The positive control was made with ketoconazole 15mg/ml and nystatin 30mg/ml, and the negative control was made with distilled water. The *Cassia reticulata* extract was obtained through maceration at room temperature with a hydroalcoholic solution. The yeast was activated with Sabouraud dextrose agar 4% (Merck) put in sterile Petri dishes. It was measured the inhibition area formed around the discs with the concentrations of the extract. As a result, it was determined that the concentrations of *Cassia reticulata* at 75% and 100% showed and inhibitory effect on the *Candida Albicans*. There was no antimicrobial effect in the 50% concentration. The nystatin 30mg/ml had greater inhibition halos when compared with the ketoconazole 15mg/ml.

KEY WORDS: *CANDIDA ALBICANS*, *CASSIA RETICULATA*, HYDRO ALCOHOLIC EXTRACT.

I CERTIFY that the above is a true and correct translation of the original document written in Spanish.


Lcda. Indra Stewart.

C.C: 1757623044

Registro Senescyt: 862183198

UMACAPACITACIÓN
CAPACITACIÓN & CONSULTORÍA
 **uma** RUC: 0603266024001
Asesoría y Consultoría
E-MAIL: umacapacitacion@hotmail.com enter_pymes@hotmail.com
Quito: Paseo Iberoamérica Piso 2 Tel: 02-6190-706 / 0999794819

Anexo 20. Autorización para publicación en el repositorio digital.

	FORMATO PARA EXPEDIENTE DEL ESTUDIANTE AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL La información de este recuadro es para el control del registro. Favor no modificarla	CODIGO: sib-uce.
---	---	-----------------------------------

Fecha de entrega:	Día: 16	Mes: 02	Año: 2018
-------------------	---------	---------	-----------

INFORMACIÓN DE AUTOR (ES)			
Nombres y apellidos:	Marilú Jhoselin Vallejo Salazar	C.I. o pasaporte:	1714366471
Email:	vallejosalazarmarilu@gmail.com	Año Nacimiento:	1991
Nombres y apellidos:		C.I. o pasaporte:	
Email :		Año Nacimiento	
Nombres y apellidos		C.I. o pasaporte:	
Email:		Año Nacimiento	

INFORMACIÓN INSTITUCIONAL							
Nombre de la Facultad:	ODONTOLOGIA						
Carrera:	ODONTOLOGIA						
Título a optar:	ODONTÓLOGA						
Pregrado:	☒	Especialización:	☐	Maestría:	☐	Doctorado:	☐
Institucional:	☐	Otro:	☐				
Tutor (es):	Dra. Marina Antonia Dona Vilade						

INFORMACIÓN Y CATEGORÍA DEL DOCUMENTO. Marque con X (uno o varios)		
Artículo de Revista	Revista Académica / Científica	☐
Capítulo de Libro	Tesis (Maestría y Doctorado)	☐
Libro	Trabajo de grado (Pregrado y Especialización)	☒
Memoria de Evento	Otro	☐
Ponencia	Cual?	☐
Producción Docente		☐
Título y subtítulo del documento: "Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de la planta <i>Cassia reticulata</i> sobre <i>Cándida albicans</i> . Estudio in vitro".		

DINÁMICA DE INVESTIGACIÓN (Definida por cada Facultad. Consultar con su Tutor)	
Grupo de Investigación:	CIENCIAS ODONTOLÓGICAS BÁSICAS
Línea de Investigación:	BIOLOGÍA ESTOMATOLÓGICA
Área:	MICROBIOLOGÍA ORAL
Tema:	"Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de la planta <i>Cassia reticulata</i> sobre <i>Cándida albicans</i> . Estudio in vitro".

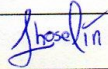
AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL

Por medio de este formato manifiesto (manifestamos) mi (nuestra) voluntad de autorizar a la Universidad Central del Ecuador, la publicación en texto completo, de manera gratuita y por tiempo indefinido en el Repositorio Digital de la Universidad Central del Ecuador, así como en índices, buscadores, redes de repositorios y Biblioteca Digital su difusión, el documento académico-investigativo objeto de la presente autorización, con fines estrictamente educativos, científicos y culturales, en los términos establecidos.

En virtud del reconocimiento y protección a los Derechos de Autor consagrados en la Ley de Propiedad Intelectual en el Ecuador, de lo señalado en la Declaración de Berlín sobre el Acceso Abierto al Conocimiento en las Ciencias y Humanidades, así como del uso de Licencias de Creative Commons, indico mi decisión respecto a publicar mi (nuestro) trabajo en el Repositorio Institucional de Acceso Libre Nacional e Internacional, de la Universidad Central del Ecuador.

Como autor (autores) manifiesto (manifestamos) que el presente documento académico-investigativo es original y se realizó sin violar o usurpar derechos de autor de terceros, por lo tanto, la obra es de mi (nuestra) exclusiva autoría y poseo (poseemos) la titularidad sobre la misma. La Universidad de Central del Ecuador, no será responsable de ninguna utilización indebida del documento por parte de terceros, será exclusivamente mi (nuestra) responsabilidad atender personalmente cualquier reclamación que pueda presentarse a la Universidad. Autorizo (autorizamos) al Repositorio Institucional de la Universidad Central del Ecuador, convertir el documento al formato que el repositorio lo requiera (impreso, digital, electrónico o cualquier otro conocido o por conocer) con fines de preservación documental; académico y de investigación. Esta autorización no implica renuncia a la facultad que tengo (tenemos) de publicar posteriormente la obra, en forma total o parcial, por lo cual podré (mos), dando aviso por escrito a la Biblioteca de la Universidad Central del Ecuador, con no menos de un mes de antelación, solicitar que el documento deje de estar disponible para el público en el Repositorio Institucional de la Universidad de Central del Ecuador, así mismo, cuando se requiera por razones legales y/o reglas del editor de una revista.

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

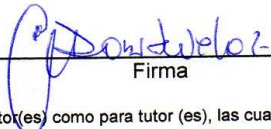
Firma autor*		Cédula:	1714366471
Firma autor*		Cédula:	
Firma autor*		Cédula:	

ESPACIO EXCLUSIVO PARA EL ASESOR O REPRESENTANTE COMITÉ EVALUADOR DE FACULTAD

Entiendo los términos en los que el autor acepta la publicación en texto completo, en especial aquellos en los que asume la autoría del documento y que excluye a la Universidad Central del Ecuador o a mi persona por cualquier reclamo o litigio de terceros, haciéndose responsable de los efectos que ello conlleva. He leído íntegramente el texto completo y evaluado este documento en su componente académico e investigativo; utilicé mecanismos de detección antiplagio y/o buscadores comerciales en línea que permiten detectar indicios de fraude académico; según los conocimientos adquiridos en mi área de especialidad profesional certifico un alto nivel de confiabilidad de autoridad, que cumple con los requisitos de calidad exigidos por la Universidad Central del Ecuador para efectos de visibilidad y prestigio nacional e internacional y por lo tanto avalo la calidad de este trabajo y su inclusión en texto completo y referencial en la Colección de Trabajos de Titulación.

AVAL DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL

Nombre tutor*	Dra. Marina Antonia Dona Vilade	Email	marinadona_perio@hotmail.com
---------------	---------------------------------	-------	--


Firma

*Se aceptan firmas originales y/o digitales, tanto para autor(es) como para tutor (es), las cuales son **requisitos indispensables** para la entrega en Biblioteca.