

UNIVERSIDAD REGIONAL AUTÓNOMA DE LOS ANDES

UNIANDES



FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

PROGRAMA MAESTRÍA EN FARMACIA CLÍNICA Y HOSPITALARIA

**PERFIL DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN
DEL GRADO ACADÉMICO DE MAGÍSTER EN FARMACIA CLÍNICA Y
HOSPITALARIA**

TEMA:

**EFFECTO IN VITRO ANTIMICROBIANO DE COMINO (*Cuminum cyminum*)
SOBRE PORPHYROMONAS GINGIVALIS**

AUTOR: Q.F. SANTANA GONZALEZ JUAN DANIEL

ASESORES: DR. VITERI RODRIGUEZ JUAN ALBERTO, MSc

ING. OÑA CISNEROS FABIAN DAVID, M.Sc. Ph.D(c)

AMBATO – ECUADOR

2018

APROBACIÓN DE LOS ASESORES DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

CERTIFICACIÓN:

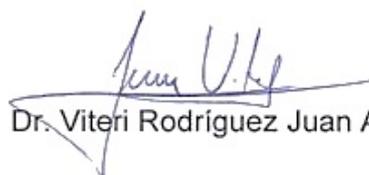
Quienes suscriben, legalmente **CERTIFICAN QUE:** El presente Trabajo de Titulación realizado por el Q.F **Santana González Juan Daniel**, estudiante del Programa de Maestría en Farmacia Clínica y Hospitalaria, Facultad de Ciencias Médicas, con el tema “**EFFECTO IN VITRO ANTIMICROBIANO DE COMINO (*Cuminum cyminum*) SOBRE PORPHYROMONAS GINGIVALIS**”, ha sido prolijamente revisado, y cumple con todos los requisitos establecidos en la normativa pertinente de la Universidad Regional Autónoma de los Andes - UNIANDES-, por lo que se aprueba su presentación.

Ambato, mayo del 2018



Ing. Oña Cisher Fabián David, MSc. PhD (C)

ASESOR



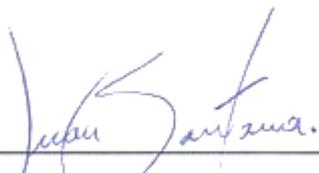
Dr. Viteri Rodríguez Juan Alberto, MSc.

ASESOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Q.F **Santana González Juan Daniel**, estudiante del Programa de Maestría de Farmacia Clínica y Hospitalaria, Facultad de Ciencias Médicas, declaro que todos los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación, previo a la obtención del grado académico de **MAGÍSTER EN FARMACIA CLINICA Y HOSPITALARIA**, son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas, por lo que son de mi exclusiva responsabilidad.

Ambato, mayo 2018

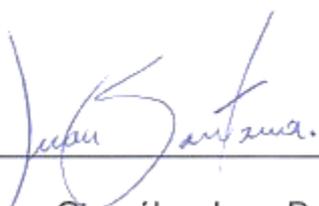


QF. Santana González Juan Daniel
CI. 1307980415
Autor

DERECHOS DE AUTOR

Yo, Q.F **Santana González Juan Daniel**, declaro que conozco y acepto la disposición constante en el literal d) del Art. 85 del Estatuto de la Universidad Regional Autónoma de los Andes, que en su parte pertinente dice: El patrimonio de la UNIANDES está constituido por La propiedad intelectual sobre las Investigaciones, trabajos científicos o técnicos, proyectos profesionales y consultoría que se realicen en la Universidad o por cuenta de ella;

Ambato, mayo 2018



QF. Santana González Juan Daniel

CI. 1307980415

Autor

DEDICATORIA

Dedico este proyecto, principalmente a Dios por darme la fortaleza necesaria para culminar esta meta propuesta en la vida.

A mi amor.

A mis queridos padres Otis y Mirna, quienes son un ejemplo vivo de superación y constancia.

A mis amigos, Jennifer, Manuel, Denisse, Leonel y Bertha, por la perseverancia, metas, convicciones y las ganas de salir adelante que hemos compartido desde el primer día.

A todos quienes han aportado de manera positiva en este propósito.

A todos ustedes con infinito amor este logro más en la vida. Los amo mucho.

Juan Daniel Santana González.

AGRADECIMIENTO

Dios, Padres, Patria...

Gracias.

El Autor.

INDICE GENERAL

Portada.

Aprobación de los asesores del trabajo de titulación

Declaración de autenticidad

Derechos del autor

Dedicatoria

Agradecimiento

Índice General

Índice de tablas

Índice de gráficos

Resumen

Abstract

Introducción	1
Antecedentes de la investigación	1
Planteamiento del problema	2
Formulación del problema	3
Delimitación del problema	3
Objeto de la investigación	3
Campo de acción	4
Línea de investigación	4
Objetivo general	4
Objetivos específicos	4
Hipótesis	4
Justificación del tema	5

Breve explicación de la metodología a emplear	5
Estructura de la tesis	5
Elementos de novedad	6
Aporte teórico	6
Significación practica	6
Novedad científica	6
CAPITULO 1.	7
1 Marco teórico	7
1.1 Comino. Historia.	7
1.2 Taxonomía, morfología, distribución geográfica	7
1.3 Usos generales	9
1.4 Uso del comino como medicina tradicional	10
1.5 Porphyromonas gingivalis	11
1.6 Morfología	11
1.7 Crecimiento	11
1.8 Patogenicidad	11
1.9 Enfermedades dentales y bucales	11
1.10 Definición	11
1.11 Placa bacteriana	12
1.12 Caries	12
1.13 Agentes etológicos	13
1.13.1 Candidiasis oral (muguet)	14
1.13.2 Gingivitis no complicada	15
1.13.3 Gingivitis ulcerosa aguda necrosante	15

1.13.4 Estomatitis herpética/ herpes labial (calentura)	16
1.13.5 Ulceras orales	17
1.13.6 Periodontitis	17
1.14 Conclusiones parciales	18
CAPITULO 2	
2 Marco metodológico.	19
2.1 Caracterización	19
2.2 Propuesta	19
2.2.1 FASE 1: Estudio etnofarmacológico / etnobotánico	20
2.2.2 Evaluación cuantitativa de la diversidad de especies	21
2.2.3 FASE 2: Obtención de metabolitos por extracto etanólico y aceite esencial	25
2.2.4 Identificación botánica	25
2.2.5 Pruebas analíticas	27
2.2.5.1 Humedad	27
2.2.5.2 Cenizas totales	27
2.2.5.3 Cenizas totales en agua	28
2.2.5.4 Cenizas totales en ácido clorhídrico	28
2.3 FASE 3: Estudio microbiológico	28
2.4 Conclusiones parciales	32
CAPITULO 3	
3 Análisis de resultados	33
3.1 Estudio etnofarmacológico / etnobotánico	33
3.2 Resultados de estudio etnofarmacológico	33
3.3 Resultados de muestra vegetal	34

3.4 Promedio de halos de inhibición del aceite esencial de <i>Cuminum cyminum</i>	36
3.5 Promedio de halos de inhibición de extracto etanólico de <i>Cuminum cyminum</i>	44
3.6 Conclusiones parciales	51
Conclusiones generales	51
Recomendaciones	52
Bibliografía	
ANEXOS.	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química del aceite esencial de frutos de <i>C. cyminum</i> L.	8
Tabla 2. Encuesta a realizar	21
Tabla 3. Diluciones de Aceite Esencial y Extracto etanólico de comino (<i>Cuminum Cynimum</i>)	31
Tabla 4. Escala de Duraffourd – Sensibilidad bacteriana	32
Tabla 5. Resultados de encuestas de estudio Etno-farmacológico.	33
Tabla 6. Resultados de estudio etno-farmacológico.	34
Tabla 7. Resultado de los halos de inhibición – Aceite esencial	35
Tabla 8. Efecto Inhibitorio de Aceite esencial de Comino.	37
Tabla 9. Regresión de la variable HI (mm) – aceite esencial	38
Tabla 10. Análisis de la varianza – aceite esencial	38
Tabla 11. C1 / Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre las categorías con un intervalo de confianza de 95% - aceite esencial	39
Tabla 12. Cuadro de reagrupamiento – aceite esencial	40
Tabla 13. C1 / Fisher (LSD) / Análisis de las diferencias entre las categorías con un intervalo de confianza de 95% - aceite esencial	41
Tabla 14. C1 / REGWQ / Análisis de las diferencias entre las categorías con un intervalo de confianza de 95% - aceite esencial	41
Tabla 15. Resultado de los halos de inhibición – Extracto etanólico	43
Tabla 16. Efecto Inhibitorio de extracto etanólico de comino	45
Tabla 17. Regresión de la variable HI (mm) – extracto etanólico	45
Tabla 18. Análisis de varianza – extracto etanólico	46
Tabla 19. C1 / Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre las categorías con un intervalo de confianza de 95% - extracto etanólico	47
Tabla 20. Cuadro de reagrupamientos – extracto etanólico	48
Tabla 21. C1 / Fisher (LSD) / Análisis de las diferencias entre las categorías con un intervalo de confianza de 95% - extracto etanólico	49
Tabla 22. C1 / REGWQ / Análisis de las diferencias entre las categorías con un intervalo de confianza de 95% - extracto etanólico	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Detalle de planta de comino con sus frutos	8
Figura 2. Frutos deseados de comino, listo para su venta y consumo.	10
Figura 3. Mapa de la ciudad de Guayaquil. Ecuador	25

RESUMEN

El uso de las plantas como métodos alternativos de medicina viene incrementándose con el paso del tiempo, es así que la Organización Mundial de Salud mediante políticas sanitarias, ayuda a las autoridades y promueve el desarrollo de fitofármacos, con la utilización segura y eficaz de la medicina tradicional y complementaria, con la reglamentación de productos, prácticas y profesionales.

La investigación tiene tres etapas; la primera consta de un estudio etnofarmacológico, realizado en la Provincia de Manabí, donde se estableció que el comino presenta un nivel de uso significativo (UST) de 20% e índice de valor de uso (IVU) de 1,4. La segunda, marcha fitoquímica, estableció la presencia de metabolitos secundarios como terpineol y ácido cumínico relacionados con la acción antimicrobiana. La tercera evaluó el efecto *in vitro* antimicrobiano del aceite esencial y extracto etanólico de Comino sobre *Porphyromonas gingivalis*, mediante técnica de difusión de disco en agar Mueller Hinton-Sangre; se midieron concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100% de aceite esencial y extracto etanólico de *comino*; se usó amoxicilina como control positivo y agua destilada como control negativo. Los efectos inhibitorios del extracto etanólico y aceite esencial fueron de 84,08% y 89,76% respectivamente, presentando una sensibilidad media según la escala de Duraffour. En cuanto a la estadística se utilizó ANOVA, determinándose los valores para aceite esencial $p=0.008$; y el extracto etanólico $p=0.001$, lo que concluye que las hipótesis nulas son rechazadas.

PALABRAS CLAVES: Comino, *Cuminum cyminum*, *Porphyromonas gingivalis*, antimicrobiano.

ABSTRACT

The use of plants as alternative methods of medicine increases with time. The World Health Organization, through health policies, helps the authorities and promotes the development of Phytopharmaceuticals by using traditional and complementary medicine and also by ruling products, practices and professionals.

The present research has three stages: the first consists of an ethnopharmacological study conducted in Manabí where it was established that cumin has a significant usage level (UL) 20% and use value index (UVI) 1, 4. The second, phytochemical march, established the presence of secondary metabolites such as terpineol and cuminic acid, which are related to the antimicrobial action. The third stage evaluated the in vitro antimicrobial effect of the essential oil and Comino ethanolic extract on *Porphyromonas gingivalis*, by using disc diffusion on Mueller Hinton agar-Blood. Concentrations were measured at 25%, 50%, 75% and 100% of essential oil and cumin ethanol extract. Additionally, amoxicillin was used as positive control and distilled water as negative control. The inhibitory effects of the ethanolic extract and essential oil were 84.08% and 89.76% respectively. This shows an average sensitivity according to the Duraffour scale. In terms of statistics, ANOVA was used, determining the values for essential oil $p = 0.008$ and the ethanolic extract $p = 0.001$. It can be concluded that null hypotheses are rejected.

Key Words: Cumin, Cuminun cyminum, *Porphyromonas gingivalis*, antimicrobial.

INTRODUCCION

Antecedentes de la Investigación.

En varias partes del mundo, las instancias normativas, los profesionales de la salud y el público están afrontando cuestiones relativas a la seguridad, eficacia, calidad, disponibilidad, preservación y reglamentación de la medicina tradicional y complementaria (MTC). La utilización de la MTC sigue siendo amplia y difundida en 183 países, mostrando un rápido crecimiento en los demás. En consecuencia, la OMS (Organización Mundial de la Salud) efectuó un análisis general de la situación de actual de la MTC en todo el mundo y colaboró con expertos en la elaboración de la estrategia sobre medicina tradicional 2014-2023, para fomentar el uso de la MTC en la práctica médica. ⁽¹⁾.

La medicina tradicional es todo el conjunto de conocimientos, aptitudes y prácticas basados en teorías, creencias y experiencias indígenas de las diferentes culturas, sean o no explicables, usados para el mantenimiento de la salud, así como para la prevención, el diagnóstico, la mejora o el tratamiento de enfermedades físicas o mentales. El uso tradicional de medicamentos herbarios, se entiende como un empleo prolongado a lo largo de la historia. Su uso está bien establecido y ampliamente reconocido como inocuo y eficaz, teniendo la capacidad de ser aceptado por las autoridades nacionales ⁽²⁾.

Las plantas aromáticas y medicinales, a través de sus metabolitos secundarios, proporcionan una mezcla compleja de moléculas volátiles presentes en el aceite esencial y en los extractos de las mismas. Estos metabolitos secundarios, ejercen una actividad antibacteriana que se ha utilizado en la medicina popular durante siglos. Durante las últimas décadas, la aparición de resistencia antibacteriana nos ha obligado a buscar agentes antimicrobianos nuevos y eficientes. El importante número de estudios sobre el uso de aceites esenciales y sus componentes contra bacterias resistentes a múltiples fármacos, como *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina, *Mycobacterium tuberculosis* y *Pseudomonas aeruginosa*, muestran el excepcional potencial de estos productos naturales para frenar el desarrollo de resistencia antibacteriana. Además, el uso de aceites esenciales y sus componentes en combinación con antibióticos puede incrementar susceptibilidad bacteriana ⁽³⁾.

Los aceites esenciales tienen como ventaja, que son obtenidos de material vegetal, los cuales han sido consumidos históricamente como alimentos de uso común y tienen demostrada su inocuidad en humanos, los aceites en hierbas y especias como el comino, en el cual se identificó componentes mayoritarios como el aldehído cumínico y taninos ⁽⁴⁾, demuestran que son compuestos determinantes en preparaciones médicas, veterinarias, industria alimentaria y preparación de fungicidas ⁽⁵⁾.

El comino (*Cuminum cyminum*) es un ingrediente habitual en la comida india. Ha sido usado desde hace mucho tiempo en la medicina tradicional para curar la diarrea, dispepsia y trastornos gástricos, así como agente antiséptico; el comino tiene una potente actividad antimicrobiana sobre diversas especies de bacterias y hongos. Los estudios químicos realizados indican que la mayor parte de esta actividad antimicrobiana es debida al cuminaldehído (p-isopropil benzaldehído) presente en el fruto desecado de esta planta ⁽⁶⁾.

Planteamiento del problema.

El acceso a documentos de grado científico sobre el uso de plantas sobre enfermedades es muy limitado, lo que ocasiona que la gran cantidad de información que se usa a la actualidad es de origen empírico basado en la MTC; existen países y poblaciones que utilizan la etnofarmacología como método de tratamiento a patologías de manera oficial sin tener un protocolo específico. El comino, por ciertas propiedades en la MTC, se ha utilizado como espasmolítico y anti flatulento, actuando directamente sobre el sistema digestivo del paciente.

La resistencia anti microbiana (RAM), se produce cuando los microorganismos (bacterias, hongos, virus y parásitos) sufren cambios al verse expuestos a los antimicrobianos (antibióticos, antifúngicos, antivíricos, antipalúdicos o antihelmínticos, por ejemplo). Los microorganismos resistentes a la mayoría de los antimicrobianos se conocen como ultrarresistentes, como resultado, los medicamentos se vuelven ineficaces y las infecciones persisten en el organismo, lo que incrementa la morbilidad y mortalidad de varias patologías ⁽⁹⁾.

El *Porphyromonas gingivalis* es una bacteria anaerobia que habita el área subgingival y tiene un importante papel en la etiología y patología de la enfermedad periodontal. Existe evidencia que la infección por *Porphyromonas gingivalis* genera aumento de riesgo de enfermedades cardiovasculares; se descubrió que las personas que tienen algún tipo de enfermedad de las encías, tienen casi el doble de probabilidad de sufrir una enfermedad de las arterias coronarias, en comparación con las que tienen una encía sana. ⁽¹⁰⁾.

Los aspectos anatómicos y fisiológicos del surco y las bolsas periodontales permiten que sean sitios resistentes al efecto de limpieza de la saliva, de la actividad mecánica de la lengua y de las mejillas, se convierten en un área de retención y estancamiento de bacterias, inducen reacciones que tienen repercusión a nivel sistémico y pueden incluso generar o exacerbar procesos patognomónicos que afectarían no solo la salud oral, sino también la salud general del hospedero ⁽⁷⁾. Además de ser un factor predominante en enfermedad periodontal, la *Porphyromonas gingivalis* está implicada en condiciones sistémicas, como la aterosclerosis, la neumonía por aspiración, alteraciones durante el embarazo, la artritis reumatoide, entre otras ⁽⁸⁾.

Formulación del Problema.

¿Cuál será el efecto antimicrobiano del aceite esencial y extracto etanólico del comino (*Cuminum cyminum*) sobre *Porphyromonas gingivalis*.

Delimitación del problema.

Espacial: La investigación tendrá lugar en la zona norte de la Provincia de Manabí, en Chone, Canuto y Calceta, además, se recolectarán muestras vegetales en el mercado de transferencia de víveres en el norte de Guayaquil.

Objeto de la Investigación.

Actividad antimicrobiana del aceite esencial y extracto etanólico del comino (*Cuminum cyminum*).

Campo de Acción.

Estudio etnofarmacológico, análisis bibliográfico fitoquímico, obtención de la esencia y extracto etanólico del comino (*Cuminum cyminum*) y estudio microbiológico frente a *Porphyromonas gingivalis*.

Línea de Investigación.

Estudios Microbiológicos

Objetivo General.

Determinar el efecto in vitro antimicrobiano del comino (*Cuminum cyminum*) sobre *Porphyromonas gingivalis*.

Objetivos Específicos.

- Realizar un estudio etnofarmacológico a la población de Chone, Canuto y Calceta de la Zona norte de Manabí.
- Determinar mediante literatura la marcha fitoquímica del comino (*Cuminum cyminum*)
- Extraer el aceite esencial del comino (*Cuminum cyminum*) mediante destilación de arrastre de vapor.
- Preparar el extracto etanólico del comino (*Cuminum cyminum*), mediante extracción por maceración.
- Realizar un estudio microbiológico del aceite esencial y el extracto etanólico de comino (*Cuminum cyminum*)

Hipótesis

Positiva: El aceite esencial y extracto etanólico del comino (*Cuminum cyminum*) presenta actividad antimicrobiana frente a la cepa *Porphyromonas gingivalis*.

Ho: $\mu = 0$

Nula: El aceite esencial y extracto etanólico del comino (*Cuminum cyminum*) no presenta actividad antimicrobiana frente a la cepa *Porphyromonas gingivalis*.

Hi: $\mu \neq 0$

Variable de la Investigación.

INDEPENDIENTE.- Porphyromonas gingivalis

DEPENDIENTE.- Efecto *in vitro* antimicrobiano del aceite esencial y extracto etanólico de comino (*Cuminum cyminum*) frente a la cepa de *porphyromonas gingivalis* ATCC® 33277.

Justificación del tema.

La presente investigación se enfocará en estudiar los hábitos de uso de la medicina tradicional y complementaria, ya que debido a la alta resistencia bacteriana se está volviendo a los saberes ancestrales para el tratamiento de ciertas patologías, sin embargo, no existe documentación de peso científico que respalde el uso de plantas en salud humana. Así, el presente trabajo permitiría mostrar la capacidad antimicrobiana de una especie vegetal frente a una cepa de un patógeno específico, además de ofrecer una mirada integral la posible producción de fitofarmacos seguros y eficaces.

Breve explicación de la metodología investigativa a emplear.

Este estudio consta de tres fases, la primera de un estudio etnofarmacológico que permitirá saber la importancia del uso del comino en la población a encuestar, la segunda de una revisión bibliográfica de la marcha fitoquímica donde se explicará los metabolitos que contiene el comino, además de los procesos de extracción del aceite esencial y el extracto etanólico del mismo y tercero, se realizará un estudio microbiológico bajo la modalidad cuali-cuantitativa de tipo descriptiva y exploratoria. El método a aplicar será hipotético deductivo como guía en la descripción del método científico. Se hará al final un análisis estadístico con ANOVA de los resultados que permitirán establecer la discusión final.

Estructura de la tesis.

El presente trabajo de investigación está conformado por tres capítulos que contienen la información bibliográfica y técnica que sustentará en lo posterior a los resultados que se obtengan.

- Capítulo 1:- Marco Teórico.
- Capítulo 2: Marco Metodológico.
- Capítulo 3: Análisis de resultados.
- Conclusiones generales
- Recomendaciones

Elementos de novedad.

Aporte teórico.

El uso de plantas en la medicina tradicional y complementaria, nos centra a trabajar sobre el comino como una especie de significación en el uso cultural y nos enfoca en realizar encuestas etnofarmacológicas con el fin de determinar la aceptación cultural; el estudio de la capacidad antimicrobiana de los metabolitos secundarios del comino frente a cepas que no han sido investigadas, lleva a realizar una recopilación bibliográfica sobre la MTC, además, del uso de técnicas científicas para extraer estos compuestos con eficacia y seguridad para el usuario, precautelando el efecto beneficioso sobre la salud.

Significación práctica.

Aportar a la comunidad una alternativa a la medicina contemporánea, con el desarrollo y uso de fitofármacos, seguros y eficaces frente a varios patógenos responsables de enfermedades comunes y recurrentes con alta incidencia en la población.

Novedad científica.

El aceite esencial y el extracto etanólico del comino (*Cuminum cyminum*) están constituidos por una presencia importante de aldehído cumínico, monoterpenos, compuestos polifenólicos y flavonoides, los cuales son metabolitos secundarios del fruto desecado y presentan actividad antimicrobiana en distinto grado confiriéndose gran utilidad para el tratamiento de patologías, pudiendo de esta manera determinar los metabolitos que sean responsables del efecto

antimicrobiano y de su inminente uso en la elaboración de fitofármacos que puedan ser utilizados por la población de manera eficaz y segura.

CAPITULO 1. Marco Teórico.

1.1 Comino. Historia

El comino es una especia indispensable en casi todos los preparados de curry, sopas, pasteles, pan, queso, picantes, salsas y todas las mezclas de especias. Ha sido muy cotizado por las culturas antiguas, a lo largo y ancho del mundo. Fue la especia favorita del mundo antiguo y fue usada como condimento y medicina por los babilonios y egipcios. Los egipcios no solo lo usaron para aromatizar carnes, pescados y guisos, sino también para momificar sus muertos ⁽³⁰⁾.

La planta es posiblemente originaria del área mediterránea, tal vez de Egipto y Siria, ahora crece extensivamente en Turquía e Irán. Parece que ha sido cultivada en Palestina desde hace mucho tiempo. El primer exportador de comino a los Estados Unidos fue Irán, antes de las restricciones llevadas a cabo en 1979, suplidas actualmente sobre todo por Turquía, India y China ⁽³⁰⁾.

Hipócrates y Dioscórides describieron las propiedades medicinales del comino. En la Edad Media fue habitualmente usado como medicinal en Europa y Asia, siendo bien conocidos sus efectos positivos sobre la digestión. Aunque el aceite esencial de comino fue usado como medicinal en el mundo antiguo, carece de gran importancia en la medicina occidental actual ⁽³⁰⁾.

1.2 Taxonomía, morfología, distribución geográfica

Su nombre botánico, *Cuminum cyminum*, procede del griego *kyminon* (que significa comunión), pertenece la familia Umbelíferas (*apiaceae*). Una umbelífera es una planta con racimos de flores planos o redondeados, que sobresalen de la parte alta de los tallos partiendo desde un único punto central (como una sombrilla) ⁽³⁰⁾.

La planta del comino es pequeña, tierna y anual, creciendo hasta una altura de aproximadamente 30 cm y produciendo pequeñas flores blancas, rosas o lilas, incluidas en umbelas con 10 a 20 flores. El fruto, se le conoce como semilla de comino, es amarillo pardusco, alargado y con nueve prominencias ⁽³⁰⁾.

El aceite esencial de comino contiene como componentes químicos mayoritarios al alfapineno, limoneno, 1,8-cineol, y en una menor concentración el linalool y alfaterpineol ⁽³¹⁾.

Figura 1. Detalle de planta de comino con sus frutos.



Nota: Obtenido de <http://herbgardening.com/growingcumin.html> el 02 de mayo del 2018

Tabla 1. Composición química del aceite esencial de frutos de *C. cyminum* L.

Compuesto	%Composición
α -Tuyeno	0,2
α -Pino	0,6
Sabineno	0,7
β -Pino	10,3
Mirceno	0,8

α -Felandreno	0,4
ρ -Cimeno	7,2
β -Felandreno	0,7
γ -Terpineno	19,0
ρ -Ment-3-en-7-al	5,1
Aldehído cumínico	25,2
ρ -Menta-1,3-dien-7-al	13,0
ρ -Menta-1,4-dien -7-al	16,6

Nota: Modificado de Derakhasan S et al., 2010

1.3 Usos generales

El comino ha sido usado como conservante en picantes y otros productos alimentarios. Es conocido que inhibe el crecimiento de algunos hongos de la putrefacción de los alimentos y que controla la enfermedad del mildiu ⁽²⁸⁾.

El aceite esencial del comino presenta un alto contenido en cuminaldehído y otros aldehídos que son los responsables del fuerte aroma y sabor de este, es también muy volátil y puede perderse la mitad tan sólo durante el proceso de molienda ⁽²⁸⁾.

El aceite también puede ser utilizado en perfumería y como aromatizante de bebidas, por su alto contenido de metabolitos volátiles y aromáticos. ⁽²⁸⁾. El cuminaldehído se utiliza a veces en perfumería por su olor característico y como esterilizante por su acción astringente y antimicrobiana ⁽²⁸⁾.

1.4 Uso del comino como medicina tradicional

El comino presenta diversas propiedades medicinales. Es una hierba aromática y astringente que beneficia el aparato digestivo y actúa como estimulante de los órganos sexuales. Ha sido usado en el tratamiento de trastornos digestivos leves, como carminativo, eupéptico y astringente, en afecciones broncopulmonares, y como analgésico ⁽²⁸⁾.

Figura 2. Frutos deseados de comino, listo para su venta y consumo.



Nota: Obtenido de <https://www.cocinista.es/web/es/enciclopedia-cocinista/especias-de-la-a-a-la-z/comino.html> el 02 de mayo del 2018.

Es útil en diarreas y dispepsias. Puede utilizarse también tópicamente en forma de cataplasmas para eliminar manchas y dolores ocasionales ⁽²⁸⁾.

Estudios preliminares de la Universidad de Chihuahua, México, muestran que el comino presenta propiedades antimicrobianas. El extracto alcohólico de comino presentó una inhibición significativa de microorganismos como *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y *Saccharomyces cerevisiae*. Sin embargo, el componente del extracto responsable de la actividad antimicrobiana no fue identificado ⁽²⁸⁾.

Con el extracto de comino, se observó una significativa inhibición del crecimiento para *Agrobacterium tumefaciens* y *B. subtilis*. En ambos casos, el crecimiento fue inhibido a concentraciones mínimas de 10 mg PEE/mL ⁽²⁸⁾.

1.5 Porphyromonas Gingivalis

Las *Porphyromonas gingivalis* pertenecen a la división de las Bacteroidetes y son gram negativos inmóviles, forman colonias en agar sangre. Se encuentran en la cavidad oral y están implicadas en algunas formas de enfermedades periodontales ⁽²⁸⁾.

1.6 Morfología

Las *Porphyromonas gingivalis* son un bacilo corto o cocobacilo, miden de 0.5 - 0.8 μm x 1 - 3.5 μm , anaerobio estricto, gram negativo ⁽²⁹⁾.

1.7 Crecimiento

En el surco gingival encuentra las condiciones para su crecimiento, interaccionando con el huésped produciendo una destrucción lenta pero constante de los tejidos del periodonto ⁽²⁷⁾.

1.8 Patogenicidad

Es predominante en la Periodontitis crónica, sus múltiples factores de virulencia la hacen sumamente agresiva. Su predominancia ha sido considerada como un factor de riesgos para enfermedades sistémicas inflamatorias, como la del infarto de miocardio. Aunque su susceptibilidad a una diversidad de fármacos hace posible su manejo con antimicrobianos previa remoción mecánica de biofilm subgingival ⁽²⁷⁾.

Esta bacteria produce varios factores de virulencia, así como su capacidad de invadir células periodontales, dándose una protección contra el sistema de defensa del huésped ⁽²⁷⁾

1.9 Enfermedades dentales y bucales

1.10 Definición

Las enfermedades bucales pueden definirse como aquellas que impiden gozar de una buena salud bucodental. Entiéndase por estas el dolor orofacial, cáncer

de boca o de garganta, infecciones y llagas bucales, enfermedades periodontales (de las encías), caries, pérdida de dientes y otras enfermedades y trastornos que limitan en la persona afectada la capacidad de morder, masticar, sonreír, y hablar, al tiempo que repercuten en su bienestar psicosocial ⁽¹¹⁾.

Algunas enfermedades bucales incluyen:

- Herpes labial.- Llagas dolorosas sobre los labios, alrededor de la boca, de origen viral.
- Afta Oral.- Llagas dolorosas dentro de la boca, de origen viral o bacteriano.
- Leucoplasia.- Parches blancos producto de crecimiento celular excesivo en mejillas, encías o lenguas, comúnmente en fumadores.
- Enfermedades dentales y periodontales
- Halitosis ⁽¹⁷⁾.

1.11 Placa Bacteriana

La placa dental es un biofilm o masa bacteriana que crece en la superficie dentro de la boca. Es un depósito pegajoso en un principio carente de color, pero cuando se forma sarro, se torna de color amarillo pálido a café. Es comúnmente encontrada entre los dientes, frente a los dientes, detrás de los dientes, sobre superficies de masticación, a lo largo de la línea gingival, o debajo de los márgenes cervicales ⁽¹⁸⁾.

1.12 Caries.

La caries dental ha sido descrita como una enfermedad multifactorial relacionada con la dieta, bacterias intraorales, composición de la saliva y otros factores ⁽¹⁹⁾.

Bajo otras circunstancias, puede considerarse como una enfermedad infecciosa causada por la flora normal de la cavidad oral. Como muchas enfermedades infecciosas, una masa crítica de bacterias cariogénica es un prerrequisito, y esta masa crítica puede obtenerse solo en presencia de sacarosa, un sustrato en el que la caries se desarrolla ⁽¹⁹⁾.

Así la caries dental involucra la interacción en el tiempo de una superficie dental susceptible, las bacterias cariogénicas, y la disponibilidad de una fuente de carbohidratos fermentables, especialmente sacarosa ⁽¹⁹⁾.

1.13 Agentes etiológicos

Para la leucoplasia el tabaco es el factor etiológico más importante, le sigue con frecuencia el alcohol, y, por último, otros factores como irritativos o friccionales ⁽²⁰⁾.

Mientras que para la enfermedad periodontal la etiología es principalmente infecciosa (placa bacteriana). Todo comienza cuando las bacterias producen factores de virulencia (Ej.: lipopolisacarido-LPS, ácido lipoteicoico) y estos entran en contacto con las células del epitelio del surco pero es en especial atención, las células del epitelio de unión (EU) las que producen defensinas y citoquinas pro-inflamatorias. Las defensinas son péptidos antimicrobianos que dañan la superficie de las bacterias, permitiendo su eliminación. Pero son de gran importancia la producción de IL-1 y TNF (factor de necrosis tumoral), generando cambios a nivel vascular. Incrementan el calibre de los vasos sanguíneos e inducen la expresión de proteínas de adhesión celular. Adicionalmente, producen IL8, una citoquina con actividad quimiotáctica para PMNs (polimorfonucleares). De esta forma, los PMNs son atraídos al sitio donde se acumulan las bacterias, salen de los vasos sanguíneos y se acumulan en el tejido conectivo adyacente al surco alterando el tejido conectivo adyacente al EU. Muchos PMNs se abren paso por los espacios intercelulares del EU y salen al surco donde se degranulan liberando consigo reactivos del oxígeno (ROIs) y enzimas como catepsina G, lactoferrina, defensinas, mieloperoxidasa, metaloproteinasas (MMP-8) y serin proteasas ⁽²¹⁾.

Si bien todos estos reactivos biológicos son nocivos para las bacterias, también lo pueden ser para los tejidos periodontales y algún daño tisular microscópico puede esperarse. No obstante, el agente infeccioso es controlado en la mayoría de casos, el estímulo disminuye y se establece un balance de la respuesta inmune ⁽²¹⁾.

Después de estimulada la respuesta inmune innata, desencadena la respuesta inmune adaptativa y aparecen en el tejido conectivo linfocitos T CD4 y linfocitos

B, ayudando a resolver el proceso inflamatorio. La estimulación de linfocitos toma entre 5 y 7 días en alcanzar su mayor activación. Por lo tanto, una buena respuesta innata es fundamental para mantener la salud periodontal. Los linfocitos T CD4 producen citoquinas (IFN, IL-2) que promueven una mejor actividad de macrófagos y co-estimulan a los linfocitos B a producir anticuerpos tipo IgG e IgA neutralizantes. El resultado es una respuesta inmune que controla los microorganismos que se están acumulando en el surco periodontal, de forma silenciosa y sin expresar signos clínicos inflamatorios evidentes a simple vista. A medida que progresa el proceso inflamatorio éste se vuelve crónico y comienza la degradación de los tejidos de soporte, dando como resultado la formación de la bolsa periodontal, pérdida de inserción clínica y pérdida ósea ⁽²¹⁾.

1.13.1 Candidiasis oral (muguet)

Se define como una enfermedad de la piel y la mucosa, causada por un hongo del género *Cándida* ⁽²²⁾

Los hongos del género *Cándida* son habitantes habituales en boca, sistema gastrointestinal, piel y vagina, por lo que se consideran agentes infecciosos endógenos específicos. Son poco virulentos, no son transmisibles y solo producen infección de la mucosa en presencia de una predisposición local o general manifiesta o ambas, de ahí que sean considerados hongos oportunistas ⁽²²⁾.

Dentro de la clínica comienza con un eritema difuso e indoloro, que pasa desapercibido durante unas dos horas. Posteriormente, aparecen una manchas blanquecinas sobre la mucosa yugal, lengua, encías y paladar, que pueden presentarse de forma difusa o agrupada semejando restos de leche coagulada (a lo que debe su nombre) ⁽²²⁾.

Al frotar las lesiones con una gasa, estas lesiones desaparecen ofreciendo cierta resistencia, y dejando una superficie enrojecida. El cuadro clínico desaparece a los 6-8 días luego del inicio de tratamiento ⁽²²⁾.

El hongo comienza, por lo general, en la lengua y dentro de las mejillas y se puede esparcir al paladar, encías, amígdalas y garganta. En casos severos, la

infección puede llegar hasta la laringe (cuerdas vocales), tracto digestivo, sistema respiratorio o la piel ⁽²²⁾.

Se denomina muguet a unas lesiones que recuerdan las gotas de yogourt o leche coagulada. La forma infantil puede ser por una contaminación a través del canal del parto, o por el uso del biberón poco limpio, asociado con la deficiencia del sistema inmunológico del huésped ⁽²²⁾.

Clínicamente se manifiesta por la aparición de unas manchas blancas en toda la boca, especialmente en surcos, mucosa yugal, lengua, paladar, amígdalas, etc., que se desprenden fácilmente al pasar una gasa, dejando en la zona en la que se asentaba una superficie enrojecida. Se acompaña de halitosis ⁽²²⁾.

1.13.2 Gingivitis no complicada

Es una enfermedad infectocontagiosa causada por una placa bacteriana organizada, proliferante y patogénica, en la que se observan cambios en el color, forma y textura; Dicha inflamación gingival, debe cursar sin pérdida detectable de hueso alveolar, ni de inserción de encía adherida ⁽⁸⁾.

Esta enfermedad gingival es el resultado de la placa bacteriana localizada en la encía marginal, que por mal aseo dentario coloniza el área ⁽⁸⁾.

Es el estadio inicial de muchas enfermedades periodontales ⁽⁸⁾.

Se plantea que la *P. Gingivalis*, *A. Actinomycetemcomitans* y *T. Forsythensis* pueden colonizar a una edad muy temprana la boca, de manera que la presencia de la placa supragingival podría colaborar con el desarrollo de estos microorganismos de la placa subgingival predisponiendo a futuro el desarrollo de enfermedades periodontopatógenas de mayor impacto ⁽²³⁾.

1.13.3 Gingivitis ulcerosa aguda necrosante

Es una enfermedad infecciosa bacteriana, inflamatoria, destructiva y dolorosa, es caracterizada por la muerte y desprendimiento de tejido gingival. Provoca una destrucción rápida de tejido, provocando con ello su inflamación, posterior necrosis del tejido y por lo tanto una gran pérdida de hueso de soporte, lo que da lugar a la pérdida de los órganos dentales ⁽²⁴⁾.

Las lesiones características provocadas por la GUNA son depresiones socavadas crateriformes en la cresta de la papila interdental y se extiende después hacia la encía marginal ⁽²⁴⁾.

Se describen fases dentro de la gingivitis ulcerosa aguda necrosante, en la cual cada fase supone empeoramiento de la enfermedad: Necrosis de la punta de la papila interdental, necrosis de la papila entera, extensión de la necrosis hacia la encía marginal, extensión de la necrosis hacia la encía adherida, extensión de la necrosis hacia la mucosa labial o bucal, exposición de hueso alveolar por necrosis, perforación de la piel de la mejilla por la necrosis ⁽²⁴⁾.

1.13.4 Estomatitis herpética/herpes labial (calentura)

El virus del herpes simple (VHS) es un patógeno humano común que posee dos serotipos: el tipo 1 afecta fundamentalmente a la cavidad oral, mientras que el tipo 2 se encuentra más relacionado con las infecciones genitales. El contagio se produce por contacto directo ⁽²⁵⁾.

Las manifestaciones clínicas varían en función de si la infección es primaria o secundaria, así como de la localización anatómica. La infección primaria puede cursar de forma subclínica, identificada sólo por la seroconversión o por la aparición de recurrencias posteriores, o bien puede presentarse de una forma aguda, conocida como gingivostomatitis herpética primaria ⁽²⁵⁾.

Los pacientes, generalmente niños menores de 4 años, presentan una serie de signos y síntomas prodrómicos caracterizados por malestar, artralgias, cefalea, eritema faríngeo, fiebre y adenopatías regionales. A los 3-5 días aparece una gingivitis, con las encías enrojecidas, tumefactas y hemorrágicas, y odinofagia ⁽²⁵⁾.

Después del 2do o tercer día aparecen en los labios, la lengua, la mucosa yugal, el paladar y la faringe múltiples vesículas de 1-2 mm de diámetro que rápidamente se rompen formando úlceras dolorosas, poco profundas que tienden a coalescer ⁽²⁵⁾.

Remiten espontáneamente sin dejar secuelas en un período de 8-10 días ⁽²⁵⁾.

1.13.5 Úlceras orales

Las úlceras orales, también llamadas de úlceras aftosas, estomatitis aftosas, aftas bucales, llagas o simplemente aftas, son lesiones muy comunes de la mucosa oral ⁽²⁶⁾.

Las aftas son lesiones benignas que no suelen causar mayores problemas más allá de la incomodidad. No obstante, algunas enfermedades más graves de la cavidad oral pueden manifestarse con lesiones ulceradas muy semejantes, lo que puede causar alguna confusión. Un ejemplo es el cáncer de la cavidad oral, que en las fases iniciales puede parecerse a un afta ⁽²⁶⁾.

La afta es una úlcera que puede surgir en cualquier punto de la cavidad oral: lengua, labios, encía, garganta, úvula, etc. Son lesiones de forma ovalada, blancuzcas (a veces amarillentas), poco profundas y limpias. Pueden ser únicas o múltiples, pequeñas o grandes ⁽²⁶⁾.

1.13.6 Periodontitis

A diferencia de la gingivitis, la periodontitis es la inflamación de la encía y el periodonto de soporte, afectando de forma significativa el tejido conectivo gingival, ligamento periodontal, cemento y hueso ⁽²⁷⁾.

Patognomónicamente se observa inflamación, sangrado al sondaje, formación de la bolsa periodontal, pérdida de inserción y pérdida ósea radiográfica ⁽²⁷⁾.

Oficialmente se define un caso confirmatorio de periodontitis como: ≥ 2 sitios independientes con pérdida de inserción ≥ 3 mm proximal y formación de bolsa periodontal. Así mismo, la extensión puede ser clasificada como localizada ($\leq 30\%$ de sitios afectados) y generalizada ($>30\%$ de sitios afectados) ⁽²⁷⁾.

En cuanto a la severidad de la destrucción periodontal, el único parámetro que muestra la magnitud del daño, es el nivel de inserción clínica. Por lo tanto, la severidad de la enfermedad puede ser clasificada como leve, moderada y severa dependiendo del grado de pérdida de inserción en un diente en particular, teniendo como referencia la longitud radicular ⁽²⁷⁾.

Existe una periodontitis agresiva (La velocidad de destrucción periodontal es rápida y dado que comienza temprano en la vida, la destrucción se observa en sujetos jóvenes), que se ha clasificado en dos formas clínicas de la siguiente manera: periodontitis agresiva localizada que presenta: establecimiento durante la pubertad y afecta incisivos y primeros molares; y periodontitis agresiva generalizada presentando: afección de sujetos menores de 30 años, pero se puede presentar en sujetos mayores y aparte de incisivos y primeros molares, afecta más de 3 dientes adicionales ⁽²⁷⁾.

1.14 Conclusiones parciales.

1. El comino, ha servido desde tiempos ancestrales en la medicina tradicional y comunitaria, se lo utiliza para varias dolencias por su alto contenido de metabolitos secundarios.
2. Los compuestos químicos como los polifenólicos del aceite esencial de comino, el gama terpineol y el aldehído cumínico, son los principales metabolitos secundarios del comino.
3. Los antibióticos sintéticos pueden ser sustituidos con polifenoles con catequinas, los cuales proveen un producto de origen natural e inocuo para la salud humana, estos, tienen una gran actividad antimicrobiana sobre bacterias Gram positivas y Gram negativas.
4. El *Porphyromonas gingivalis* es un microorganismo que puede adquirir nuevas propiedades, las cuales permiten la expresión de determinantes de patogenicidad para definir su virulencia en condiciones ambientales específicas.

CAPITULO 2. Marco metodológico.

2.1 Caracterización.

El presente trabajo de investigación se desarrolló en modalidad cualitativa y cuantitativa, con diseño experimental. Por su alcance es una investigación correlacional

Se tomó la información etnofarmacológica de encuestas realizadas a la población de Chone, Canuto y Calceta, de la zona norte de la Provincia de Manabí.

Se realiza el análisis bibliográfico de la marcha fitoquímica para comino, luego la extracción de metabolitos por medio de arrastre de vapor para el caso de aceites esenciales y por extracción hidroalcohólica para el caso de extracto etanólico.

Se evaluó la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales y extractos etanólicos a distintas concentraciones de comino, mismo que es expendido en la ciudad de Guayaquil, siendo las muestras adquiridas en el Mercado de Sauces 9, al Norte de la ciudad.

Se realiza valoración estadística de las variables usadas por medio de ANOVA.

2.2 Propuesta.

El diseño experimental de esta investigación conlleva a realizar tres fases:

- Encuestas etnofarmacológicas.
- Obtención de metabolitos por extracto etanólico y aceite esencial.
- Estudio microbiológico

2.2.1 FASE 1: Estudio etno-farmacológico / etno-botánico.

Se realizó un estudio etno-farmacológico en las poblaciones de Chone, Canuto y Calceta, de la Zona norte de Manabí; con una población de 97450 habitantes, para lo cual se aplicó la formula (Ecuación 6), con una muestra de 1214 personas.

(Ecuación 6).

$$n = \frac{N\alpha^2 Z^2 \alpha}{e^2(N-1) + \sigma^2 Z^2 \alpha}$$

Donde:

n = el tamaño de la muestra.

N = tamaño de la población.

σ = Desviación estándar de la población, que generalmente cuando no se tiene su valor, suele utilizarse un valor estimado a ojo o a partir de una pequeña muestra o muestra piloto. Para ser conservador (prudente), mejor errar estimando por exceso que por defecto.

Z_α = Valor obtenido mediante niveles de confianza. Es un valor constante que, si no se tiene su valor, se lo toma en relación al 95% de confianza equivale a 1,64 (como más usual) o en relación al 99% de confianza equivale 2,33, valor que queda a criterio del encuestador.

e = Límite aceptable de error muestral que, generalmente cuando no se tiene su valor, suele utilizarse un valor que varía entre el 1% (0,01) y 9% (0,09), valor que queda a criterio del encuestador.

Reemplazando valores tendremos:

$$n = \frac{(2)^2 1214 (0.5)(0.5)}{(0.1)^2 (1214 - 1) + (2)^2 (0.5)(0.5)}$$

$$n = \frac{1214}{13.13}$$

El tamaño de la muestra es:

$$n = 97450 = 92$$

Criterio de Inclusión.

- Adultos mayores (65 años o más)
- Conocimientos ancestrales de uso de plantas

Criterios de exclusión.

- Menores de 65 años
- Que no tengan conocimientos ancestrales de uso de plantas.

Materiales.

Encuesta impresa y estandarizada para el uso de plantas en la medicina tradicional y complementaria.

Tabla 2. Encuesta a realizar.

Estudio Etno - Farmacológico: Chone, Canuto y Calceta, Zona Norte de Manabí						
ITEM	Resultados 1	Resultados 2	Resultados 3	Resultados 4	Resultados 5	Resultados 6
PLANTA						
INDICACION						
SUGERIDA POR						
MODO DE USO						
PARTA USADA DE LA PLANTA						
MODO DE PREPARACION						
DONDE ADQUIERE LA PLANTA						
DURACION DEL TRATAMIENTO						
RESULTADO						
CONJUNTA O SOLA						
CONOCE SI LA PLANTA TIENE ESTUDIOS CIENTIFICOS						
DONDE SE ENTERO DE LOS ESTUDIOS						
CONTRAINDICACIONES						
PERSONAS EN LAS QUE SE HAN USADO						

2.2.2 Evaluación cuantitativa de la diversidad de especies.

Valor de Uso de las Plantas

Según Martín (1995) Phillips *et al.*, (1994), trabajando en la Amazonía peruana propusieron un nuevo enfoque al valor de uso. Ellos basan sus estimaciones de la importancia cultural en una técnica del índice de informante, la cual tiene que ver con las coincidencias entre la gente local acerca de la utilidad de las distintas especies.

Según Martín (1995) no todos los usos tienen igual importancia. Otro aspecto relevante mencionado por éste autor es el significado cultural que tienen muchas plantas, pero a pesar de ello pueden mostrar un valor de uso bajo en relación a otras, debido al poco conocimiento de sus otros usos.

Ejemplo de lo anterior son muchas plantas del trópico cuyo uso está restringido a la alimentación humana o animal pero que, además, presentan una diversidad de usos potenciales como medicinal, control biológico, colorantes, entre otros.

Índice de valor de uso (IVU)

Para evaluar las preferencias del pueblo hacia las plantas utilizadas, se empleó el concepto de Valor de Uso (Philips y Gentry, 1993). Esta valoración muestra la cantidad de usos que se otorga a una determinada planta. Para determinar esta valoración se realizaron entrevistas a los tres informantes acerca de los nombres y usos locales de las plantas, cada vez que un informante indicaba un uso se catalogaba como evento. La fórmula es la siguiente:

(Ecuación 7)

$$VU_{is} = \frac{\sum U_{is}}{N_{is}}$$

Donde:

VU_{is} = es el valor de uso atribuido a una especie particular (s) por un informante (i).

U_{is} = número de usos mencionado por el informante.

N_{is} = número total de eventos.

Luego el valor general de uso se obtiene con la sumatoria de los valores de uso calculados anteriormente:

(Ecuación 8)

$$VU_s = \frac{\sum VU_{is}}{N_s}$$

Donde:

VUis= es el valor de uso atribuido a una especie particular (s) por un informante (i).

ns= número total de informantes entrevistados acerca de una especie particular (s).

Los datos de cada informante son usados para calcular el número promedio de usos de una especies en particular (Cotton, 1999). De esta forma, los usos identificados por cada informante fueron promediados para obtener el índice de valor de uso general para cada especie. Esta estadística se puede aplicar a cualquier técnica de obtención de datos, en la que numerosas personas, proporcionan información sobre la gama de usos de alguna planta (Martin, 1995). Hay que señalar que en nuestro caso para cada individuo, hubo un solo evento por lo que el valor de uso general VUs se calcula directamente sin tener que calcular previamente el VUis

Nivel de uso significativo

Para estimar el *nivel de uso significativo* para cada especie y verificar su aceptación cultural, se utilizó la metodología propuesta por Germosén Robineau (1995). Esta metodología, expresa que aquellos usos medicinales que son citados con una frecuencia superior o igual al 20%, por las personas encuestadas que usan plantas como primer recurso para un determinado problema de salud, pueden considerarse significativos desde el punto de vista de su aceptación cultural y, por lo tanto, merecen su evaluación y validación científica. El UST se calcula dividiendo el número de citas de uso para cada especie (s), entre el número de informantes encuestados, se propone la siguiente ecuación:

(Ecuación 9)

$$\text{UST} = \frac{\text{Uso Especie}}{\text{Nis}} \times 100$$

Dónde:

Uso Especie (s) = número de citas para cada especie.

Nis = número de informantes encuestados.

Valor de uso de las plantas medicinales

Es prioritario investigar sobre medicina tradicional con los recursos disponibles en el país para conseguir un aprovechamiento y uso de la misma con un respaldo científico sólido. Para lo cual la etnobotánica, la fitoterapia y fitoquímica están tomando un auge insospechado, tanto en la medicina complementaria como en el ámbito académico. Los estudios orientan la investigación farmacológica hacia

aquellas plantas con mayor aval tradicional y contribuirá a que la industria farmacéutica identifique nuevos agentes terapéuticos con menor toxicidad y efectos secundarios.

Para el análisis etnobotánico es necesario el empleo de 3 índices para determinar la importancia de las diferentes especies identificadas en una determinada área de estudio, los cuales son:

Índice de valor de uso de especies (IVU)

Conocimiento relativo de la especie por varios informantes (RVU)

Nivel de uso significativo (UST)

EL Índice de valor de uso de especies evalúa la importancia o valor cultural del uso de los recursos (especies, familias) para diferentes grupos humanos.

Existen diferentes metodologías para la evaluación cuantitativa de la importancia del uso de las plantas y se agrupan en tres enfoques principales:

Consenso de informantes.- Metodología inicialmente desarrollada por Adu Tutu et al. (1979) para el análisis de la importancia relativa de cada uso, establecida de acuerdo con el grado de consenso en las respuestas de los informante. Generalmente se emplea con éxito en estudios etnobotánicos a largo plazo.

Ubicación subjetiva.- La importancia relativa de las plantas o usos es determinada de manera subjetiva por los investigadores, con base en el significado cultural de cada planta o uso.

Sumatoria de usos (usos totalizados).- Es la forma más rápida de cuantificar datos etnobotánicos y ha sido la más usada hasta el momento. Se argumenta en que cada uso mencionado para una especie determinada, contribuye al valor total de importancia de dicha especie, independientemente de la categoría.

Ventaja: Rapidez de aplicación y suministra información cuantitativa confiable para grandes áreas a un costo relativamente bajo.

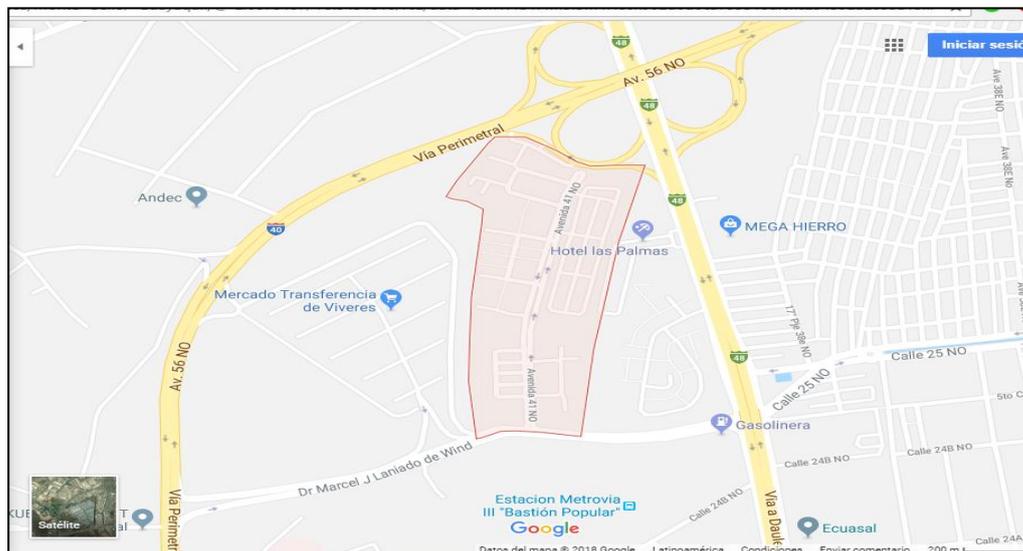
Desventaja: Los resultados no pueden analizarse de manera estadística y es menos objetiva que la metodología de consenso de informantes.

El Conocimiento relativo de la especie por varios informantes hace referencia al valor de uso por cada informante respecto al índice de valor de uso de la especie.

El Nivel de uso significativo usa la metodología propuesta por Germosén – Robineau la cual expresa que aquellos usos medicinales que son citados con una frecuencia superior o igual al 20% por los informantes, pueden considerarse significativos desde el punto de vista de su aceptación cultural y por tanto merece su evaluación y validación científica.

2.2.3 FASE 2: Obtención de metabolitos por extracto etanólico y aceite esencial.

Figura 3: Mapa de la ciudad de Guayaquil. Ecuador.



Nota: Imagen obtenida de Google Maps – Detalle de mercado de transferencia de víveres al norte de la ciudad de Guayaquil.

La muestra fue recolectada al norte de la ciudad en el mercado de transferencia de víveres.

Se adquirieron 5 Kilos de comino (*Cuminum cyminum*) en el mercado de transferencias de víveres (Guayaquil-Ecuador). Estos fueron desinfectados con alcohol antiséptico en spray de 72 G.L, para luego ser seleccionados.

Criterios de Inclusión y Exclusión.

INCLUSION: Solo fruto desecado de comino, tamaño y color uniformes.

EXCLUSION: Piedras, ramas, hojas, otros frutos, otros contaminantes.

2.2.4 Identificación botánica.

Se solicitó la identificación botánica de la muestra recolectada a la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Guayaquil. (Anexo 1)

Evaluación de la pureza del aceite esencial de comino

Parámetro: terpenos totales

Método: Interno-extracción

Preparación y obtención de extractos.

Estos se obtienen mediante la separación de porciones biológicamente activas presentes en los tejidos de las plantas, con el uso de un solvente (alcohol, agua, mezcla de estos u otro solvente selectivo) y un proceso de extracción adecuado (15).

Obtención de los extractos.

Una vez colectadas las semillas con criterio de inclusión se secaron a 40°C luego se trituraron manualmente, formándose un polvo color café claro, se obtuvo un total de 72g.

Se prefiere etanol como solvente porque los compuestos alcohólicos rompen la membrana celular y así se logra extraer grandes cantidades de material endocelular, además de ser un disolvente que puede solubilizar un amplio rango de metabolitos (47).

1.1.1) Extracto Etéreo.

Pesar 25 g. de droga seca y molida y extraerlos con 200 ml de éter etílico por maceración durante 48 horas. Se obtiene el extracto y el residuo sólido (secar y pesar).

1.1.2) Extracto Etanólico

A la droga agotada con el éter etílico, extraer por maceración con etanol al 75% (tres veces el peso del residuo en volumen) durante 48 horas se obtiene el extracto y el residuo sólido (secar y pesar)

1.1.3) Destilación por arrastre de vapor

Se toman 100g de semillas, que superan los criterios de inclusión, se trocean en pedazos pequeños y se procede a refrigerar por un máximo de 2 horas, previo a la destilación.

Colocar en el balón A (agua destilada), en el balón B (muestra), ensamblar el equipo de destilación para arrastre de vapor y proceder a recoger el destilado, verificar que el lugar tenga ventilación adecuada. Una vez colectado el líquido

que debe tener un color blanco lechoso, se procede a sangrarlo con cloruro de sodio y extraerlo con cloroformo. Guardar el aceite esencial obtenido en frascos ámbar de tapa rosca. Repetir el procedimiento hasta agotar las hojas. El proceso llevará alrededor de 3-5 días.

2.2.5 Pruebas analíticas.

Todos los análisis y procedimientos se realizaron por triplicado.

2.2.5.1 Humedad

Llevar al horno secador las semillas previamente molidas para extraer la humedad de las mismas a 60°C durante 4 horas ⁽³⁴⁾

Porcentaje de humedad de la muestra:

(Ecuación 1)

$$\% H = (p - p'') / p \times 100$$

p = peso inicial de la muestra

p'' = peso final de la muestra

2.2.5.2 Cenizas totales

Con la ayuda de 2 crisoles previamente tarados, pesamos 2 gr. de muestra vegetal seca y molida en cada crisol, y llevamos a la mufla por el lapso de 3 horas a 750°C, pasado este tiempo dejar en secador y pesar ⁽³⁴⁾

(Ecuación 2)

$$C = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100$$

M2 = Masa de crisol con cenizas

M1 = Masa de crisol con muestra de ensayo

M = Masa de crisol vacío

2.2.5.3 Cenizas totales en agua

Pesar 2 g de muestra vegetal seca y molida en dos crisoles respectivamente, llevar a la mufla por 3 horas a 750°C, pasado este tiempo dejar en secador y pesar ⁽³⁴⁾

M2 = Masa de crisol con cenizas

M1 = Masa de crisol con muestra de ensayo

M = Masa de crisol vacío

(Ecuación 3)

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

2.2.5.4 Cenizas totales en ácido clorhídrico.

En el crisol con ceniza colocar 2 mL de HCl al 10 %, tapar el crisol con papel aluminio, poner agua a hervir previamente en un vaso de precipitación, posteriormente procedemos a filtrar el contenido del crisol con papel filtro tarado, con la ayuda del agua caliente realizamos varios enjuagues al papel filtro con residuo descartando el líquido del filtrado, en la último enjuague tomamos una muestra el líquido y le adicionamos 1 gota de HNO₃ y de 1-2 gotas de AgNO₃, si se obtuviese un color blanco en el líquido se procederá a seguir los enjuagues del papel filtro con agua caliente hasta que el líquido, al adicionarle las gotas de reactivo, no tomasen ningún color es decir queden transparente. Luego de esto poner el papel filtro con residuo en el crisol correspondiente para llevarlo a la mufla por 2 horas a 750 °C ⁽³⁴⁾

2.3 FASE 3: Estudio microbiológico

Se trabajó con diluciones del 25%, 50%, 75% y 100% para el extracto etanólico y aceite esencial⁽³⁴⁾

Se realizará el método de Kirby-Bauer para la determinación de los halos inhibitorios. Los discos a utilizar tienen un tamaño de 5 a 7 mm y un espesor de 0,02 mm, la cantidad de antimicrobiano selectivo debe ser preciso, puesto que

un exceso daría lugar a falsos positivos, en este caso vamos a utilizar 20 µL (microlitros) en cada disco de papel los mismos que fueron esterilizados en el autoclave y secados en la estufa ⁽³⁴⁾

Con una micropipeta se colocó 20 µL de aceite esencial y extracto etanólico de *Cuminum cyminum*, en cada uno de los discos correspondientemente. Las muestras se trabajan por triplicado; para el control positivo se utilizarán discos de amoxicilina de 10 ug y mientras que como control negativo se utilizará agua destilada estéril⁽³⁴⁾

Materiales.

- Incubadora de convección natural
- Autoclave
- Estufa eléctrica
- Baño maria.
- Mechero de Bunsen
- Cajas de Petri
- Asa de platino
- Discos de sensibilidad
- Varilla de vidrio
- Matraz Erlenmeyer de 500ml

Siembra en el agar Mueller Hinton-sangre

La cepa utilizada es de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. Para la preparación de esta cepa encontraremos un tubo con la cepa liofilizada y un líquido, las cuales hay que mezclar para diluir la cepa, este contenido lo transferimos a 10 mL de T.S.B. (Tryptic Soy Broth-por sus siglas en inglés), el cual nos permite un crecimiento vigoroso de la bacteria, al ser una base nutritiva y de gran variedad de suplementos. En el caso de la muestra de aceite esencial se coloca aceite mineral para hacer anaerobiosis. Posteriormente se incuba a 35 grados centígrados por 18 horas.

Una vez que tenemos la caja Petri con el agar Mueller Hinton-Sangre, realizamos un hisopado con el inóculo bacteriano, que consiste en tomar la caja y hacer

estrias en la superficie del agar en las tres direcciones y alrededor, lo que nos permite que la bacteria crezca en toda la extensión de la caja.

Realizado esto dejamos secar las placas por 5 minutos y luego con una pinza estéril se colocan los discos de papel filtro impregnado con 20 μ L de la muestra a las diferentes concentraciones.

Se deja reposar las placas por 15 minutos a temperatura ambiente para que el disco absorba agua del medio de cultivo y así permita difusión radial del antimicrobiano para luego trasladar a una jarra de incubación de anaerobios por 48 horas y a 37 grados centígrados. Después de dos días se procedió a la lectura de las medidas de los halos de inhibición.

Evaluación de la actividad bacteriana del extracto etanólico preparado con la técnica de difusión en disco.

Una vez conocidas las concentraciones para cada extracto, se preparó inóculos bacterianos de *Porphyromonas gingivalis* con criterios de sensibilidad: difusión 12mm y se sembró en cajas Petri con agar sangre. Se rotuló las placas indicando el número de ensayo y la posición de los discos, así como también el control positivo ⁽¹³⁾.

Pruebas microbiológicas.

El presente trabajo de investigación se lo realizó con una cepa de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. Para la preparación de esta cepa encontraremos un tubo con la cepa liofilizada y un líquido, las cuales hay que mezclar para diluir la cepa, este contenido lo transferimos a 10 mL de T.S.B. (Tryptic Soy Broth-por sus siglas en inglés), el cual nos permite un crecimiento vigoroso de la bacteria, al ser una base nutritiva y de gran variedad de suplementos. En el caso de la muestras de aceite esencial se coloca aceite mineral para hacer anaerobiosis, posteriormente se incuba a 35 grados centígrados por 18 horas ⁽⁴⁵⁾.

El propósito de esta investigación fue determinar la actividad antibacteriana de la *Cuminum cyminum* frente a *Porphyromonas gingivalis*. Se elaboró un aceite esencial utilizando la técnica de destilación por arrastre de vapor de agua, el mismo que fue diluido para obtener concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100%,

se utilizó amoxicilina 10ug como control positivo y agua como control negativo. El porcentaje de efecto inhibitorio se calculó utilizando la siguiente expresión ⁽⁴⁸⁾:

(Ecuación 4)

$$\% \text{ Efecto inhibitorio} = \frac{\text{Media diametro halo de inhibicion}}{\text{Diametro halo de inhibicion control positivo}} \times 100$$

Diluciones del Aceite Esencial y Extracto Etanólico al 75%

Para realizar el trabajo microbiológico se procede a realizar las diluciones del aceite esencial y del extracto etanólico a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%, aplicando la siguiente ecuación ⁽⁴⁸⁾:

(Ecuación 5)

$$V_1C_1=V_2C_2$$

Tabla 3 Diluciones de Aceite Esencial y Extracto etanólico de comino (Cuminum Cynimum)

EXTRACTO ETANOLICO 75%	DILUCION	VOLUMEN FINAL
ACEITE ESENCIAL	%	mL
Volumen inicial mL		
24.99 ml	25	99.96 ml
24.99 ml	50	49.98 ml
24.99 ml	75	33.32 ml
24.99 ml	100	24.99 ml

Escala de Duraffourd

Para determinar el intervalo de milímetro de los halos de inhibición de crecimiento de microorganismos se utilizó la escala de Duraffourd que demuestra la sensibilidad de la bacteria frente al aceite esencial y extracto etanólico, conforme a los resultados a continuación presentados:

Tabla 4 Escala de Duraffourd – Sensibilidad bacteriana

HALOS DE INHIBICION (mm)	
SENSIBILIDAD	Mm
Nula	< 6mm
Limite	6 - 14 mm
Media	14 - 20 mm
Superior	> 20mm

2.4 Conclusiones parciales

1. Para el estudio etnofarmacológico, se usa una matriz de recolección de resultados, la cual se aplica en forma de encuesta en la población de Chone, Canuto y Calceta de la Zona norte de Manabí.
2. Se obtienen por métodos de arrastre de vapor para el caso del aceite esencial y extracción hidroalcohólica para el caso del extracto etanólico.
3. Los procedimientos microbiológicos se basarán en la técnica de difusión de disco en agar Mueller Hinton-Sangre, con controles positivos de amoxicilina y control negativo de agua destilada sobre *Porphyromonas gingivalis*.
4. Se tomarán los resultados para verificar las variables de investigación por medio de ANOVA.

CAPITULO 3

3. Análisis de resultados.

3.1 Estudio etno-farmacológico / etno-botánico.

La información recabada en la población de Chone, Canuto y Calceta de la zona norte de la Provincia de Manabí, en un total 92 personas adultos mayores y con conocimientos ancestrales de uso de plantas, se registra en una matriz para poder analizar los datos.

Tabla 5. Resultados de estudio Etno-farmacológico.

Estudio Etno - Farmacológico: Chone, Canuto y Calceta, Zona Norte de Manabí						
ITEM	Resultados 1	Resultados 2	Resultados 3	Resultados 4	Resultados 5	Resultados 6
PLANTA	Valeriana	Ajo	Eucalipto	Llantén	Manzanilla	Comino
INDICACION	Nervios	Antibiótico, diabetes	Tos, bronquitis	Infecciones Urinarias	Dolor estomacal	Cólicos, dolor abdominal
SUGERIDA POR	Familiar	Curandero	Familiar	Familiar, Curandero	Curandero	Familiar, curandero
MODO DE USO	Infusión - te	Crudo	Crudo, Infusión	Infusión	Infusión	Infusión, machacado
PARTA USADA DE LA PLANTA	Hojas	Bulbo	Hojas	Hojas	Flores y hojas	Fruto seco
MODO DE PREPARACION	Te en agua caliente	Crudo, tragar	Crudo Masticar, Te agua caliente	Te agua caliente	Te agua caliente	Te agua caliente
DONDE ADQUIERE LA PLANTA	Mercado	Tiendas y mercados	Mercado	Mercado	Mercado	Tienda, mercado
DURACION DEL TRATAMIENTO	Diario	Diario	Semanal	Mensual	Diario	Diario
RESULTADO	Mejoría	Mejoría	Mejoría	Mejoría	Mejoría	Mejoría
CONJUNTA O SOLA	Sola	Sola	Sola	Sola	Sola	Sola, con Perejil
CONOCE SI LA PLANTA TIENE ESTUDIOS CIENTIFICOS	Si	Si	Si	Si	Si	No
DONDE SE ENTERO DE LOS ESTUDIOS	TV	TV	Internet	TV	TV	nh
CONTRAINDICACIONES	Hipertensos	Ulcera	No	No	No	No
PERSONAS EN LAS QUE SE HAN USADO	Niños, adultos y mayores	Adultos	Niños, adultos y mayores	Adultos, Mayores	Niños, adultos y mayores	Niños, adultos y mayores.

3.2 Resultados de estudio etno-farmacológico.

El resultado del estudio, logró realizar una valoración del uso de varias plantas en la MTC, entre las cuales, el comino se usa como tratamiento ancestral para varias dolencias; con un promedio de 20% en el uso significativo, puede

considerarse como una planta de uso y aceptación cultural, por lo que es factible la investigación sobre la misma.

Tabla 6 Resultados de estudio etno-farmacológico.

Nombre Común	Nombre Científico	IVU	VU	UST
Comino	<i>Cuminum cyminum</i>	1,4	0,028	20%

3.3 Resultados de muestra vegetal.

Para la determinación del efecto inhibitor del aceite esencial y extracto etanólico de *Cuminum cyminum* al 25%, 50%, 75% y 100% sobre el crecimiento *in vitro* de *Porphyromonas gingivalis*, se realizaron análisis estadísticos de los datos usando ANOVA.

Se realizó diluciones para cada una de las muestras de aceite esencial y extracto etanólico de *Cuminum cyminum*; se usaron discos de amoxicilina de 10 ug como control positivo y como control negativo se utilizó agua destilada.

Por cada dilución bacteriana de *Porphyromonas gingivalis* se utilizaron 3 placas de agar Mueller Hinton con sangre defibrinada al 5% y aplicando los discos previamente impregnados con los aceites esenciales y extractos etanólicos de *Cuminum cyminum*, se procedió a la incubación, para luego continuar con la lectura de halos de inhibición.

”.

Tabla 7. RESULTADOS DE HALOS DE INHIBICIÓN RESULTADOS DE HALOS DE INHIBICIÓN DETERMINACION DEL EFECTO ANTIMICROBIANO: Aceite Esencial de Cuminum cyminun frente a Porphyromonas gingivalis

DETERMINACION DEL EFECTO ANTIMICROBIANO: Aceite Esencial de Cuminum cyminun frente a Porphyromonas. gingivalis										
ESTUDIO DE EFECTO ANTIMICROBIANO					VALORES					
DILUCION	Placa	HALOS DE INHIBICION (mm)			Estadísticas					
		1	Control +	Control -	Mínimo	Máximo	Media	Moda	Desviación Estándar	Varianza
125%	P1	10,7	17,2	< 6	10,7	10,8	10,8	10,7	0,058	0,0025
	P2	10,8	17,2	< 6						
	P3	10,7	17,2	< 6						
	P4	10,8	17,2	< 6						
50%	P1	11,2	17,2	< 6	11,2	11,2	11,2	11,2	0,000	0,0000
	P2	11,2	17,2	< 6						
	P3	11,2	17,2	< 6						
	P4	11,2	17,2	< 6						
75%	P1	11,6	17,2	< 6	11,6	11,6	11,6	11,6	0,000	0,0000
	P2	11,6	17,2	< 6						
	P3	11,6	17,2	< 6						
	P4	11,6	17,2	< 6						
100%	P1	15,4	17,2	< 6	15,4	15,5	15,4	15,4	0,050	0,0019
	P2	15,4	17,2	< 6						
	P3	15,5	17,2	< 6						
	P4	15,4	17,2	< 6						

3.4 Promedio de halos de inhibición del aceite esencial de *Cuminum cyminum*.

Los halos resultantes obtenidos por los discos impregnados con aceite esencial de *Cuminum cyminum* dilución al 25% presenten un valor promedio de 10,8 mm para las tres placas de la mencionada dilución con cuatro discos cada una. El valor máximo que se obtuvo fue de 10,8 mm y el mínimo de 10,7 mm, con una desviación estándar de 0,025 lo cual nos indica que los valores obtenidos por medio del procedimiento son cercanos al valor medio, resultando confiables.

Con la dilución al 50% se obtuvo un valor promedio del halo de inhibición de 11,2 mm, siendo su valor mínimo 11,2 mm y 11,2 el valor máximo; la desviación estándar fue de 0,026.

La dilución al 75% obtuvo un valor promedio de la inhibición de 11,6 mm, con valores mínimos y máximos correspondientemente a 11,6 mm y 11,6 mm; la desviación estándar fue de 0,012.

Para la dilución al 100% el valor del halo de inhibición medio fue de 15,4 mm, el valor mínimo correspondió a 15,34, y el máximo a 15,5; mientras que la desviación estándar fue de 0,022.

Aplicando la fórmula de porcentaje de efecto inhibitorio para las diluciones de 25%, 50%, 75% y 100%; tomando como control positivo al diámetro promedio del disco de Amoxicilina 10 ug con un valor de 17,2 mm; se obtuvo un valor de efecto inhibitorio del 62,57% para la dilución al 25% de aceite esencial de *Cuminum Cynimum* al 15%; para la dilución del 50% el porcentaje de efecto inhibitorio fue de 62,57%, en la dilución al 75% el porcentaje del efecto inhibitorio fue de 67.46%; y para la dilución al 100% fue de un 89,76%.

Al realizar un análisis de las frecuencias hemos encontrado que 36 valores se encuentran dentro del rango de 6-14 mm, indicando con esto que el efecto inhibitorio se encuentra dentro de la "Sensibilidad Límite" de la escala de Duraffourd. Mientras que 12 valores presentan "Sensibilidad media"

Los valores analizados evidencian que todas las concentraciones presentan efecto inhibitorio al obtenerse halos de diámetro mayor a 6,00 mm.

Con esto se indica que la sensibilidad del *Porphyromonas Gingivalis* frente al aceite esencial de *Cominum Cynimum* está en un rango entre “Sensibilidad media” a “Límite”

Tabla 8. Efecto Inhibitorio de Aceite esencial de Comino.



Utilizando el análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos de los Halos de Inhibición del Aceite Esencial de *Cuminum cyminum* frente a *Porphyromonas gingivalis*, se obtienen los siguientes resultados.

Tabla 9. Regresión de la variable HI (mm):

Estadísticos de bondad del ajuste (HI (mm)):

Observaciones	23,000
Suma de los pesos	23,000
GL	17,000
R ²	0,576
R ² ajustado	0,451
MEC	5,804
RMSE	2,409
MAPE	7,049
DW	1,556
Cp	6,000
AIC	45,495
SBC	52,308
PC	0,723

El cuadro de análisis de la varianza, es el primer resultado a analizar detenidamente, con este, podemos determinar si la variable que estamos usando origina una cantidad de información significativa al modelo de la investigación o en su defecto determinar una hipótesis nula.

Dado el valor R², la variable explicativa explica el 58% de la variabilidad de la variable dependiente HI (mm).

Tabla 10. Análisis de varianza (HI (mm)):

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F
Modelo	5	134,123	26,825	4,622	0,008
Error	17	98,671	5,804		
Total corregido	22	232,794			

Calculado contra el modelo $Y=Media(Y)$

Utilizando la prueba F de Fisher, se puede determinar que el valor de la variable que se utiliza aporta gran cantidad de información significativa a este modelo de investigación.

Dado el valor p asociado al estadístico F calculado en la tabla ANOVA, y dado el nivel de significación del 5%, la información aportada por las variables explicativas es significativamente mejor que la que podría aportar únicamente la media.

Tabla 11. C1 / Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre las categorías con un intervalo de confianza de 95% (HI (mm)):

Contraste	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr > Dif	Significativo	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
CONTROL vs DILUCION 1	6,435	3,777	3,199	0,016	Sí	0,986	11,884		
CONTROL vs DILUCION 2	6,000	3,522	3,199	0,026	Sí	0,551	11,449		
CONTROL vs DILUCION 3	5,608	3,292	3,199	0,042	Sí	0,158	11,057		
CONTROL vs RANGO	3,852	2,093	3,199	0,336	No	-2,034	9,737		
CONTROL vs DILUCION 4	1,760	1,033	3,199	0,900	No	-3,689	7,209		
DILUCION 4 vs DILUCION 1	4,675	2,744	3,199	0,117	No	-0,774	10,124		
DILUCION 4 vs DILUCION 2	4,240	2,489	3,199	0,182	No	-1,209	9,689		
DILUCION 4 vs DILUCION 3	3,848	2,259	3,199	0,263	No	-1,602	9,297		
DILUCION 4 vs RANGO	2,092	1,137	3,199	0,859	No	-3,794	7,977		
RANGO vs DILUCION 1	2,583	1,404	3,199	0,724	No	-3,302	8,469		
RANGO vs DILUCION 2	2,148	1,168	3,199	0,846	No	-3,737	8,034		
RANGO vs DILUCION 3	1,756	0,954	3,199	0,926	No	-4,130	7,642		
DILUCION 3 vs DILUCION 1	0,827	0,486	3,199	0,996	No	-4,622	6,277		
DILUCION 3 vs DILUCION 2	0,393	0,230	3,199	1,000	No	-5,057	5,842		
DILUCION 2 vs DILUCION 1	0,435	0,255	3,199	1,000	No	-5,014	5,884		

Valor crítico del d de Tukey:

4,524

Tomando en consideración la Hipótesis de la investigación, podemos concluir, según los datos (Tabla 9.), que el caso es afirmativo, con la utilización de la prueba de Tukey HSD (Honestly Significantly Different), se realizan diferenciaciones entre parejas de diferencias que puedan ser posibles, al parecer los datos más significativos se encuentran entre las variantes “CONTROL”, “DILUCION 4” y “RANGO” El porcentaje de riesgo elegido es de 5% al igual que otras pruebas estadísticas normalizadas. Es importante notar que no existe transitividad, es decir, que no es significativamente diferente con un valor de $p=0.008$.

Tabla 12. Cuadro de Reagrupamientos

Categoría	Medias LS	Error estándar	Grupos	
CONTROL	17,185	1,205	A	
DILUCION 4	15,425	1,205	A	B
RANGO DILUCION 3	13,333	1,391	A	B
DILUCION 2	11,578	1,205		B
DILUCION 1	11,185	1,205		B
	10,750	1,205		B

Se observa el predominio de las variantes “CONTROL”, “DILUCION 4” y “RANGO” en la reagrupación con valores como A.

Paralelamente se realizan los estudios de Fisher (LSD) (Tabla 13.) y el REGWQ (Tabla 14.), los que proporcionan resultados levemente diferentes, por lo que hay que ser cuidadosos en el momento de tomar procedimientos de comparaciones múltiples.

El cuadro de reagrupamientos de estas pruebas da como resultados grupos parecidos, donde prevalecen las variables “CONTROL”, “DILUCION 4”, y “RANGO” por lo que se ha hecho referencia a los 3 métodos por comparaciones múltiples del Análisis de las Variables.

Tabla 13. C1 / Fisher (LSD) / Análisis de las diferencias entre las categorías con un intervalo de confianza de 95% (HI (mm)):

Contraste	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr > Dif	Significativo	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
CONTROL vs DILUCION 1	6,435	3,777	2,110	0,002	Sí	2,841	10,029		
CONTROL vs DILUCION 2	6,000	3,522	2,110	0,003	Sí	2,406	9,594		
CONTROL vs DILUCION 3	5,608	3,292	2,110	0,004	Sí	2,013	9,202		
CONTROL vs RANGO	3,852	2,093	2,110	0,052	No	-0,030	7,734		
CONTROL vs DILUCION 4	1,760	1,033	2,110	0,316	No	-1,834	5,354		
DILUCION 4 vs DILUCION 1	4,675	2,744	2,110	0,014	Sí	1,081	8,269		
DILUCION 4 vs DILUCION 2	4,240	2,489	2,110	0,023	Sí	0,646	7,834		
DILUCION 4 vs DILUCION 3	3,848	2,259	2,110	0,037	Sí	0,253	7,442		
DILUCION 4 vs RANGO	2,092	1,137	2,110	0,271	No	-1,790	5,974		
RANGO vs DILUCION 1	2,583	1,404	2,110	0,178	No	-1,299	6,465		
RANGO vs DILUCION 2	2,148	1,168	2,110	0,259	No	-1,734	6,030		
RANGO vs DILUCION 3	1,756	0,954	2,110	0,353	No	-2,126	5,638		
DILUCION 3 vs DILUCION 1	0,827	0,486	2,110	0,633	No	-2,767	4,422		
DILUCION 3 vs DILUCION 2	0,393	0,230	2,110	0,821	No	-3,202	3,987		
DILUCION 2 vs DILUCION 1	0,435	0,255	2,110	0,802	No	-3,159	4,029		

LSD-valor:

3,594

Tabla 14. C1 / REGWQ / Análisis de las diferencias entre las categorías con un intervalo de confianza de 95% (HI (mm)):

Contraste	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr > Dif	alfa (Modificado)	Significativo	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
CONTROL vs DILUCION 1	6,435	3,777	3,199	0,016	0,050	Sí	0,986	11,884		
CONTROL vs DILUCION 2	6,000	3,522	3,043	0,019	0,034	Sí	0,816	11,184		
CONTROL vs DILUCION 3	5,608	3,292	3,043	0,020	0,034	Sí	0,423	10,792		
CONTROL vs RANGO	3,852	2,093	3,043	0,121	0,034	No	-1,748	9,451		
CONTROL vs DILUCION 4	1,760	1,033	3,043	0,316	0,034	No	-3,424	6,944		
DILUCION 4 vs DILUCION 1	4,675	2,744	3,043	0,088	0,034	No	-0,509	9,859		
DILUCION 4 vs DILUCION 2	4,240	2,489	3,043	0,098	0,034	No	-0,944	9,424		
DILUCION 4 vs DILUCION 3	3,848	2,259	3,043	0,090	0,034	No	-1,337	9,032		
DILUCION 4 vs RANGO	2,092	1,137	3,043	0,271	0,034	No	-3,508	7,691		
RANGO vs DILUCION 1	2,583	1,404	3,043	0,514	0,034	No	-3,016	8,183		
RANGO vs DILUCION 2	2,148	1,168	2,906	0,488	0,025	No	-3,198	7,495		
RANGO vs DILUCION 3	1,756	0,954	2,906	0,353	0,025	No	-3,590	7,102		
DILUCION 3 vs DILUCION 1	0,827	0,486	2,906	0,879	0,025	No	-4,122	5,777		
DILUCION 3 vs DILUCION 2	0,393	0,230	2,647	0,821	0,017	No	-4,116	4,901		
DILUCION 2 vs DILUCION 1	0,435	0,255	2,647	0,802	0,017	No	-4,074	4,944		

**Tabla 15 RESULTADOS DE HALOS DE INHIBICIÓN RESULTADOS DE HALOS DE INHIBICIÓN
DETERMINACION DEL EFECTO ANTIMICROBIANO: Extracto de Cuminum cyminun frente a Porphyromonas gingivalis**

DETERMINACION DEL EFECTO ANTIMICROBIANO: Extracto de Cuminum cyminun frente a Porphyromonas. gingivalis										
ESTUDIO DE EFECTO ANTIMICROBIANO					VALORES					
DILUCION	Placa	HALOS DE INHIBICION (mm)			Estadísticas					
		1	Control +	Control -	Mínimo	Máximo	Mediana	Moda	Desviación Estándar	Varianza
25%	P1	8,7	17,2	< 6	8,7	8,8	8,8	8,7	0,058	0,0025
	P2	8,8	17,2	< 6						
	P3	8,7	17,2	< 6						
	P4	8,8	17,2	< 6						
50%	P1	10,2	17,2	< 6	10,2	10,2	10,2	10,2	0,000	0,0000
	P2	10,2	17,2	< 6						
	P3	10,2	17,2	< 6						
	P4	10,2	17,2	< 6						
75%	P1	10,8	17,2	< 6	10,8	10,8	10,8	10,8	0,000	0,0000
	P2	10,8	17,2	< 6						
	P3	10,8	17,2	< 6						
	P4	10,8	17,2	< 6						
100%	P1	14,4	17,2	< 6	14,4	14,4	14,4	14,4	0,000	0,0000
	P2	14,4	17,2	< 6						
	P3	14,4	17,2	< 6						
	P4	14,4	17,2	< 6						

3.5 Promedio de halos de inhibición de extracto etanólico de *Cuminum cyminum*

Los halos resultantes, obtenidos por los discos impregnados con extracto etanólico de *Cuminum Cynimum* dilución al 25% presen un valor promedio de 8,8 mm para las tres placas de la mencionada dilución. El valor máximo que se obtuvo fue de 8,8 mm y el mínimo de 8,7 mm, con una desviación estándar de 0,024 lo cual nos indica que los valores obtenidos por medio del procedimiento son cercanos al valor medio, y el valor de la varianza indica que las muestras son homogéneas y por ende los resultados.

Con la dilución al 50% se obtuvo un valor promedio del halo de inhibición de 10,2 mm, siendo su valor mínimo 10,2 mm y 10,2 el valor máximo; la desviación estándar fue de 0,037.

En la dilución al 75%, se obtiene un valor promedio de halo de inhibición de 10,82mm, siendo su valor mínimo 10,8 mm y 10,8 mm como valor máximo; la desviación estándar fue de 0,0113.

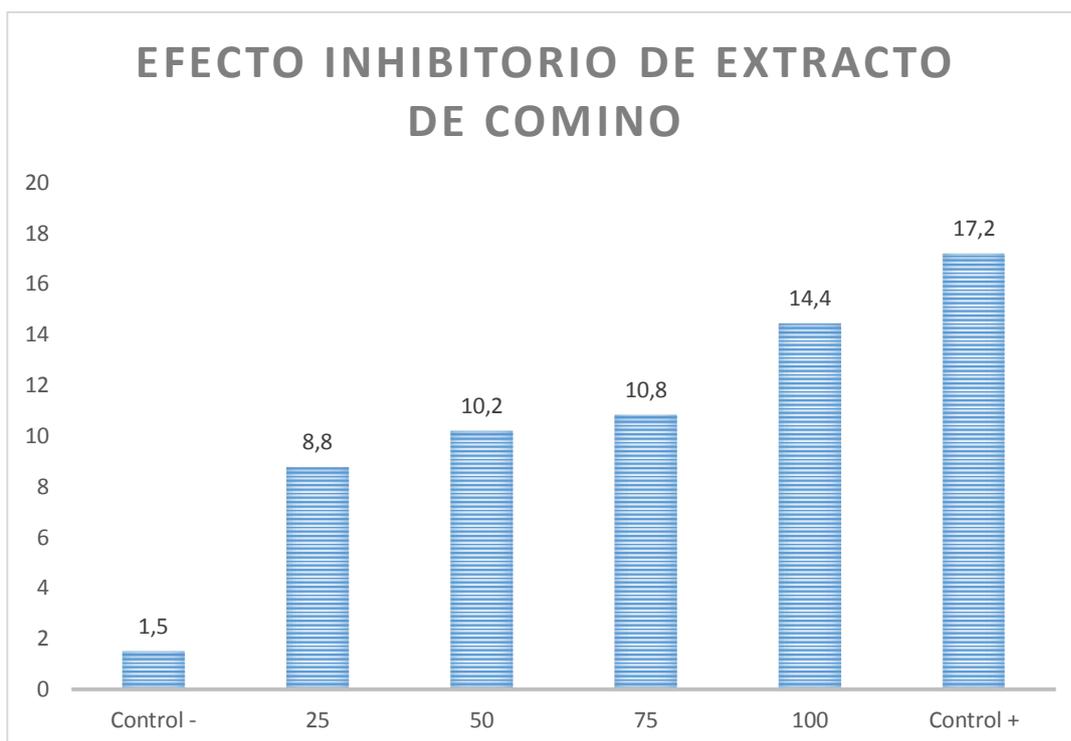
Para la dilución al 100% el valor del halo de inhibición medio fue de 14,4 mm, el valor mínimo correspondió a 14,4 mm y el máximo a 14,5 mm; mientras que la desviación estándar fue de 0,033.

Aplicando la fórmula de porcentaje de efecto inhibitorio para las diluciones de 25%, 50%, 75% y 100%; tomando como control positivo al diámetro promedio del disco de Amoxicilina 10 ug con un valor de 17,15 mm; se obtuvo un valor de efecto inhibitorio del 51,02% para la dilución al 25% de extracto etanólico de *Cuminum Cynimum*; para la dilución del 50% el porcentaje de efecto inhibitorio fue de 59,41%; la dilución del 75% el porcentaje de efecto inhibitorio fue de 63,09% y para la dilución al 100% fue de un 84,08%.

Al realizar un análisis de las frecuencias hemos encontrado que 48 valores se encuentran dentro del rango de 6-14 mm, indicando con esto que el efecto inhibitorio se encuentra dentro de la "Sensibilidad Límite".

Los valores analizados evidencian que todas las concentraciones presentan efecto inhibitorio al obtenerse halos de diámetro mayor a 6,00 mm.

Tabla 16. Efecto Inhibitorio de Extracto de Comino.



Utilizando el análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos de los Halos de Inhibición del Extracto de *Cuminum cyminum* frente a *Porphyromonas gingivalis*, se obtienen los siguientes resultados.

Tabla 17. Regresión de la variable HI (mm):

Estadísticos de bondad del ajuste (HI (mm)):

Observaciones	23,000
Suma de los pesos	23,000
GL	17,000
R ²	0,663
R ² ajustado	0,564
MEC	5,804
RMSE	2,409
MAPE	7,033
DW	1,557
Cp	6,000
AIC	45,494
SBC	52,307
PC	0,575

El cuadro de análisis de la varianza, es el primer resultado a analizar detenidamente, con este, podemos determinar si la variable que estamos usando origina una cantidad de información significativa al modelo de la investigación o en su defecto determinar una hipótesis nula.

Dado el valor R^2 , la variable explicativa explica el 66% de la variabilidad de la variable dependiente HI (mm).

Tabla 18. Análisis de varianza (HI (mm)):

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F
Modelo	5	194,119	38,824	6,689	0,001
Error	17	98,669	5,804		
Total corregido	22	292,788			

Calculado contra el modelo $Y=Media(Y)$

Utilizando la prueba F de Fisher, se puede determinar que el valor de la variable que se utiliza aporta gran cantidad de información significativa a este modelo de investigación.

Dado el valor p asociado al estadístico F calculado en la tabla ANOVA, y dado el nivel de significación del 5%, la información aportada por las variables explicativas es significativamente mejor que la que podría aportar únicamente la media.

Tabla 19. C1 / Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre las categorías con un intervalo de confianza de 95% (HI (mm)):

Contraste	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr > Dif	Significativo	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
CONTROL vs DILUCION 1	8,440	4,954	3,199	0,001	Sí	2,991	13,889		
CONTROL vs DILUCION 2	7,035	4,130	3,199	0,008	Sí	1,586	12,484		
CONTROL vs DILUCION 3	6,363	3,735	3,199	0,017	Sí	0,913	11,812		
CONTROL vs RANGO	3,852	2,093	3,199	0,336	No	-2,034	9,737		
CONTROL vs DILUCION 4	2,768	1,625	3,199	0,595	No	-2,682	8,217		
DILUCION 4 vs DILUCION 1	5,673	3,330	3,199	0,039	Sí	0,223	11,122		
DILUCION 4 vs DILUCION 2	4,268	2,505	3,199	0,177	No	-1,182	9,717		
DILUCION 4 vs DILUCION 3	3,595	2,110	3,199	0,328	No	-1,854	9,044		
DILUCION 4 vs RANGO	1,084	0,589	3,199	0,990	No	-4,802	6,970		
RANGO vs DILUCION 1	4,588	2,494	3,199	0,180	No	-1,297	10,474		
RANGO vs DILUCION 2	3,183	1,730	3,199	0,532	No	-2,702	9,069		
RANGO vs DILUCION 3	2,511	1,365	3,199	0,746	No	-3,375	8,397		
DILUCION 3 vs DILUCION 1	2,078	1,220	3,199	0,822	No	-3,372	7,527		
DILUCION 3 vs DILUCION 2	0,673	0,395	3,199	0,999	No	-4,777	6,122		
DILUCION 2 vs DILUCION 1	1,405	0,825	3,199	0,959	No	-4,044	6,854		

Valor crítico del d de Tukey:

4,524

Tomando en consideración la Hipótesis de la investigación, se obtiene el mismo resultado que con el Aceite Esencial, podemos concluir, según los datos (Tabla 19.), que el caso es afirmativo, con la utilización de la prueba de Tukey HSD (Honestly Significantly Different), se realizan diferenciaciones entre parejas de diferencias que puedan ser posibles, al parecer los datos más significativos se encuentran entre las variantes “CONTROL”, “DILUCION 4” y “RANGO”. El porcentaje de riesgo elegido es de 5% al igual que otras pruebas estadísticas normalizadas. Es importante notar que no existe transitividad, es decir, que no es significativamente diferente, con un valor de $p=0.001$.

Tabla 20. Cuadro de Reagrupamientos de Tabla 19.

Categoría	Medias LS	Error estándar	Grupos		
CONTROL	17,185	1,205	A		
DILUCION 4	14,418	1,205	A	B	
RANGO	13,333	1,391	A	B	C
DILUCION 3	10,823	1,205		B	C
DILUCION 2	10,150	1,205		B	C
DILUCION 1	8,745	1,205			C

Se observa el predominio de las variantes “CONTROL”, “DILUCION 4” y “RANGO” en la reagrupación con valores como A.

Paralelamente se realizan los estudios de Fisher (LSD) (Tabla 21.) y el REGWQ (Tabla 22.), los que proporcionan resultados levemente diferentes, por lo que hay que ser cuidadosos en el momento de tomar procedimientos de comparaciones múltiples.

El cuadro de reagrupamientos de estas pruebas da como resultados grupos parecidos, donde prevalecen las variables “CONTROL”, “DILUCION 4” y “RANGO”, por lo que se ha hecho referencia a los 3 métodos por comparaciones múltiples del Análisis de las Variables.

Tabla 21. C1 / Fisher (LSD) / Análisis de las diferencias entre las categorías con un intervalo de confianza de 95% (HI (mm)):

Contraste	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr > Dif	Significativo	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
CONTROL vs DILUCION 1	8,440	4,954	2,110	0,000	Sí	4,846	12,034		
CONTROL vs DILUCION 2	7,035	4,130	2,110	0,001	Sí	3,441	10,629		
CONTROL vs DILUCION 3	6,363	3,735	2,110	0,002	Sí	2,768	9,957		
CONTROL vs RANGO	3,852	2,093	2,110	0,052	No	-0,030	7,734		
CONTROL vs DILUCION 4	2,768	1,625	2,110	0,123	No	-0,827	6,362		
DILUCION 4 vs DILUCION 1	5,673	3,330	2,110	0,004	Sí	2,078	9,267		
DILUCION 4 vs DILUCION 2	4,268	2,505	2,110	0,023	Sí	0,673	7,862		
DILUCION 4 vs DILUCION 3	3,595	2,110	2,110	0,050	Sí	0,001	7,189		
DILUCION 4 vs RANGO	1,084	0,589	2,110	0,563	No	-2,798	4,966		
RANGO vs DILUCION 1	4,588	2,494	2,110	0,023	Sí	0,706	8,470		
RANGO vs DILUCION 2	3,183	1,730	2,110	0,102	No	-0,699	7,065		
RANGO vs DILUCION 3	2,511	1,365	2,110	0,190	No	-1,371	6,393		
DILUCION 3 vs DILUCION 1	2,078	1,220	2,110	0,239	No	-1,517	5,672		
DILUCION 3 vs DILUCION 2	0,673	0,395	2,110	0,698	No	-2,922	4,267		
DILUCION 2 vs DILUCION 1	1,405	0,825	2,110	0,421	No	-2,189	4,999		
LSD-valor:			3,59	4					

Tabla 22. C1 / REGWQ / Análisis de las diferencias entre las categorías con un intervalo de confianza de 95% (HI (mm)):

Contraste	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr > Dif	alfa (Modificado)	Significativo	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
CONTROL vs DILUCION 1	8,440	4,954	3,199	0,001	0,050	Sí	2,991	13,889		
CONTROL vs DILUCION 2	7,035	4,130	3,043	0,005	0,034	Sí	1,851	12,219		
CONTROL vs DILUCION 3	6,363	3,735	3,043	0,008	0,034	Sí	1,178	11,547		
CONTROL vs RANGO	3,852	2,093	3,043	0,121	0,034	No	-1,748	9,451		
CONTROL vs DILUCION 4	2,768	1,625	3,043	0,123	0,034	No	-2,417	7,952		
DILUCION 4 vs DILUCION 1	5,673	3,330	3,043	0,028	0,034	Sí	0,488	10,857		
DILUCION 4 vs DILUCION 2	4,268	2,505	3,043	0,095	0,034	No	-0,917	9,452		
DILUCION 4 vs DILUCION 3	3,595	2,110	3,043	0,117	0,034	No	-1,589	8,779		
DILUCION 4 vs RANGO	1,084	0,589	3,043	0,563	0,034	No	-4,515	6,684		
RANGO vs DILUCION 1	4,588	2,494	3,043	0,097	0,034	No	-1,011	10,188		
RANGO vs DILUCION 2	3,183	1,730	2,906	0,223	0,025	No	-2,163	8,530		
RANGO vs DILUCION 3	2,511	1,365	2,906	0,190	0,025	No	-2,835	7,857		
DILUCION 3 vs DILUCION 1	2,078	1,220	2,906	0,458	0,025	No	-2,872	7,027		
DILUCION 3 vs DILUCION 2	0,673	0,395	2,647	0,698	0,017	No	-3,836	5,181		
DILUCION 2 vs DILUCION 1	1,405	0,825	2,647	0,421	0,017	No	-3,104	5,914		

3.6 Conclusiones parciales.

1. Se realizó la verificación de nivel de uso significativo del comino (UST).
2. Se realizaron las extracciones de aceite esencial y extracto etanólico por medio de arrastre de vapor y extracción hidroalcohólica correspondientemente.
3. Se verificó el nivel de sensibilidad por medio de la escala de Duraffourd del *Porphyromona gingivalis* frente al aceite esencial y el extracto etanólico de comino.
4. Se realizó ANOVA para el análisis de datos estadísticos.

Conclusiones generales.

- 1- El Comino, es muy usado en diferentes tipos de procedimientos de MTC, con un 20% de Nivel de uso Significativo (UST) y lo hace una planta con alta aceptación cultural.
- 2- El comino presenta actividad antimicrobiana en aceite esencial y extracto etanólico, siendo el primero de mayor porcentaje inhibitorio con un 89,76%.
- 3- Según la escala de Duraffourd, implica que la bacteria en estudio *Porphyromona gingivalis* presenta sensibilidad media al aceite esencial de *Cuminum Cynimum*.
- 4- Los valores obtenidos de los halos de inhibición aumentaron a medida que aumentaba la concentración del extracto etanólico y aceite esencial de *Cuminum cyminum* frente a *P gingivalis*, siendo así que el valor más alto se alcanzó en concentración 100% con un promedio de 14.4 mm y 15.4 mm respectivamente.
- 5- El aceite esencial de comino no pudo alcanzar el porcentaje inhibitorio del control positivo, pues solo llegó a 74.05 %.
- 6- Se usó ANOVA para verificar la significancia de las variables usadas, se determinó un $p=0.008$ y $p=0.001$, para aceite esencial y extracto etanólico de comino respectivamente, rechazando la hipótesis nula.

Recomendaciones.

- Realizar investigación del aceite esencial y extracto etanólico de comino frente a otros agentes patógenos.
- Continuar con la investigación de uso de plantas en la medicina tradicional y complementaria, con posible desarrollo de fitofármacos.
- Obtener prácticas y métodos profesionales protocolizados para el acceso a medicina tradicional y complementaria de manera segura y eficaz.
- Generar acuerdos con organismos de Salud Pública para la adhesión al uso de la medicina tradicional y complementaria.

8. Bibliografía

1. Zhang x. Medicina tradicional, medicamentos esenciales y política farmacéutica. Ginebra; 2018.
2. Oms. Estrategia de la oms sobre medicina tradicional. ; 2013.
3. Ruiz s. Serunserdeluz. [online].; 2011. Available from: <https://serunserdeluz.wordpress.com/2011/12/15/medicina-tradicional-indigena-y-medicina-institucionalizada/>.
4. Miguel f. Use of essential oils and their components against multidrug-resistant bacteria. Academic press. 2013: p. 65-94.
5. Rea vg. Evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de comino como potencial bioconservador en la carne de trucha. Ambato; 2011.
6. Yucra n. Evaluación del aceite esencial de comino en la vida útil de la carne fresca de res y la concentración inhibitoria. Puno; 2015.
7. Mukhopadhyay b. Actividad antimicrobiana de *Cuminum cyminum* L. Calcuta; 2003.
7. Orrego psmf. *Porphyromonas gingivalis* y enfermedades sistémicas. Ces odontología. 2015.
8. De Freitas acdlpc. Proteína c-reactiva ultrasensible en pacientes con y sin periodontitis crónica severa generalizada. Avances en periodoncia. 2009; p. 145-155.
9. Mandal m. Cumin (*Cuminum cyminum* L.) Oils. Academic press. 2016: p. 377-383.
10. Oms. Salud bucodental. Nota informativa. Ginebra; centro de prensa; 2012. Report no.: 318.
11. Yan pg. *Porphyromonas gingivalis*: an overview of periodontopathogenic below the gum line. Frontiers in microbiology. 2016.
12. England I. Dental caries. Molecular medical microbiology (second edition). 2015.
13. Msp. Caries guía de práctica clínica. Quito; 2015.
14. Fernandez d. Estudio de acción hipoglucemiante y desinflamatoria de la chilca *Baccharis genistelloides* en provincia del oro. Machala; 2014.
15. Guanoluisa h. Efecto antimicrobiano del extracto, aceite esencial del jengibre sobre cepas de *Enterococcus faecalis*. Odontología. 2017.
16. Medicine usnlo. Medline plus. [online]. [cited 2018 03 07. Available from: url: <https://medlineplus.gov/mouthdisorders.html>.
17. Darby leonardi michele wm. Dental higiene: saunders; 2010.
18. Hidalgo gato-fuentes iliana dderjppja. La caries dental. Algunos de los factores relacionados con su formación en niños. Revista cubana de estomatología. 2008 enero-marzo; 45(1).
19. Manzanares jbgmáfcmgmiricm. Patología bucal. [online]. [cited 2018 03 07. Available from: https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/36557710/patologia_bucal.pdf?awsaccesskeyid=akiaiwowyygz2y53ul3a&expires=1520373183&signature=vu%2ftug7cudpdesxxgerj%2fmoxpe%3d&response-content-disposition=inline%3b%20filename%3dpatologia_bucal.pdf.
20. Je b. Respuesta inmune en las enfermedades del periodonto: desde salud hasta enfermedad y sus implicaciones terapéuticas. Revista facultad de odontología. 2009; 21(1).
21. León. Edcv. Candidiasis oral en el paciente pediátrico sano. Revisión bibliográfica.. 2013; año 14. (44).
22. Katherine vp. Enfermedad periodontal en niños con malformaciones genéticas y diagnóstico gingivoperiodontal. [online].; 2014 [cited 2018 03 07. Available from: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/6581/1/vargaskatherine.pdf>.

23. Gabriela-delfín adria rmjtgoazb. Gingivitis ulcero necrosante aguda: estudio de caso en paciente de 10 años de edad. Red de comunicación e integración biomédica. .
24. Bascones-martínez. A. Úlceras orales.. 2005; 125(590-7).
25. Colombiana fo. Bienvenido a noticias. [online]. [cited 2018 03 07. Available from: <http://federacionodontologiacolombiana.org/blog/general/aftas-bucales-causas-y-tratamiento>.
26. Botero je be. Determinantes del diagnóstico periodontal.. 2010.; 3(2)(94-99).
27. M n. "determination of the genome sequence of porphyromonas gingivalis strain atcc 33277 and genomic comparison with strain w83 revealed extensive genome rearrangements in p. Gingivalis. 2008..
28. Perfecto dr. Porphyromonas gingivalis: patógeno predominante en la periodontitis crónica. Odontología sanmarquina. 2011; 14(1)(34-38)
29. De m damrbaymm. Actividad antimicrobiana de cuminum cyminum l. Ars pharmaceutica. 2003; 44(3): p. 257-269.
30. Ossein mohammadpour emirmhfsaassmzj. Chemical composition and antifungal activity of cuminum cyminum l. Essential oil from alborz mountain against aspergillus species. Jundishapur journal of natural pharmaceutical products. 2012 mayo; 7(2).
31. Sanchez stvrmmcm. Fitoquímica de cinco especies del género baccharis (b. Boyacensis. Bogota;; 2010.
32. Prada j. Analisis metabólico de baccharis latifolia. Nueva granada;; 2015.
33. Martinez mmat. Estudio in vitro de la actividad antifungica de extractos vegetales del genero baccharis sobre candida albicans. Revista boliviana de quimica. 2011.
34. Guanoluisa h. Efecto antimicorbiano del extracto, aceite esencial del jengibre sobre cepas de enterococcus faecalis. Odontología. 2017.
35. Silva lrswyg. Cell biology of candida albicans-host interactions. ; 2016.
36. Matsumoto.. Role of streptococcus mutans surface proteins for biofilm formation. Japanese dental science review. 2017.
37. Foronda ep. Diccionario enciclopédico. Perú : larousse; 2006..
38. Gross lgfsea. Bacterial 16s sequences analysis of severe caries in young permanent teeth. 2010.:(pág. 4121.4128).
39. Edad. Gunaedcepd1ad. Gabriela-delfín adria. [online]. Available from: <http://www.uacj.mx/icb/redcib/publicaciones/paginas/atenciónprimariaalasalud.aspx>.
40. Salud omdl. Salud bucodental. ; 2012. Report no.: n° 318.
41. Pública mds. Caries guías de práctica clínica (gpc). Ecuador;; 2015.
42. Krzyściak w jakdbbsa. The virulence of streptococcus mutans and the ability to form biofilms. European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the european society of clinical microbiology. 2014 abril; 33(4).
43. Padrini l. Aceites esenciales. In francesco p. Aceites esenciales.: ediciones rionegro; 2000.
44. Naturales cdlcfyp. Preparacion de extractos. In preparacion de xtractos; 2001; montevideo: universidad de la republica.
45. Usp. Pharmacopea botanical extracts; 2007.
46. Suppakul ms. Antimicrobial properties of basil and its possible application in food packaging. Agric. Food chemical. 2003;; p. 3197-3207.
47. Gang wd. An investigation of the storage and biosynthesis of phenylpropenes in sweet basil. Plant physiology. 2001;; p. 539-555.
Derakhshan s, sattari m, bigdeli m. Effect of subinhibitory concentrations of cumin (cuminum cyminum l.) Seed essential oil and alcoholic extract on the morphology, capsule expression and urease activity of klebsiella pneumoniae. Int j antimicrob agents 2008, 32(5): 432-6

ANEXOS

De: Msc. Xavier Cornejo, curador asociado

Para: Dra. Carmen Bonifaz, Decana Fact. CCNN y Directora de Herbario GUAY

Fecha: Viernes, 3 de febrero de 2018

Asunto: Identificación de 1 espécimen y descripción.

Registro GUAY de Identificación: 69

Saludos Cordiales. Por medio de la presente se entrega la identificación y descripción de 1 espécimen de planta vascular, recibido en el Herbario GUAY el 1 de febrero de 2018.

Atentamente,



MSc. Xavier Cornejo
Curador
Herbario GUAY

Adj.: Identificación
cc: Herbario GUAY

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Superorden: Apiales

Orden: Apiales

Familia: Apiaceae

Género: *Cuminum*

Nombre científico: ***Cuminum cyminum***

Nombre vernáculo: Comino

Descripción taxonómica:

El comino es una planta anual que puede llegar a alcanzar una altura de 60 a 90 cm, con hojas largas y finas, flores pequeñas, blancas o rosas agrupadas en umbelas, cuyas semillas de figura fusiforme constituyen también una especia con el mismo nombre



CUESTIONARIO ETNOFARMACOLÓGICO

La Universidad Regional Autónoma de los Andes (UNIANDES), se encuentra desarrollando un proceso de investigación sobre el uso tradicional de las plantas medicinales por la población ecuatoriana, es por ello que, teniendo en cuenta la experiencia acumulada por usted al respecto le solicitamos su valiosa cooperación, la cual se materializará llenando el siguiente cuestionario.

1.- ¿Conoce Ud. alguna(s) planta(s) utilizada(s) con fines medicinales?

Si: ___ No: ___ ¿Cuáles? _____, _____, _____
_____, _____, _____,
_____.

3.- ¿La(s) ha utilizado Ud. alguna vez? ¿Para qué? (Indicación) Si: ___ No: ___

Nombre de la Planta	Indicación o Uso
a)	a)
b)	b)
c)	c)
d)	d)

4.- ¿Quién se la indicó o le sugirió su uso?

a) Médico ___ b) Curandero ___ c) Familiares ___ d) Vecinos o amigos ___

5.-¿En qué forma la ha utilizado? (Modo de uso)

a) ___ Infusión b) ___ Cocimiento c) ___ Planta cruda d)

___ Otra forma ¿Cuál? _____

6.- ¿Cómo la preparó? (Describa el modo de preparación del remedio especificando la parte de la planta empleada: *hojas, tallo, raíces, flores, frutos*.)

7.- ¿Dónde encuentra Ud las plantas?

a) ___ El patio b) ___ Fuera de la casa c) ___ Las compra.

¿Dispone de un ejemplar a su alcance? Si: ___ No ___ (Recolectar muestra).

8.- ¿Durante qué tiempo la utilizó? (Duración del tratamiento)

a) ___ Un día b) ___ Menos de una semana c) ___ Más de una semana

d) ___ Un mes e) ___ Varios meses f) ___ Un año g) ___ Más de un año

9.- ¿Qué resultados obtuvo con su empleo?

a) ___ Mejoró b) ___ No mejoró c) ___ Empeoró

10.- ¿La ha consumido sola o conjuntamente con otras sustancias? En el caso de que la haya consumido con otras sustancias responda:

Con medicamentos ¿cuáles? _____, _____,

Con otras plantas medicinales ¿cuáles? _____, _____,

11.- ¿Conoce Ud si esa planta se ha estudiado científicamente? Si: ___ No: ___

¿Por qué vía le llegó la información de dicho(s) estudios (s)?

a) ___ La radio b) ___ T.V c) ___ Libros, revista, periódico d) ___ Internet

12.- ¿Conoce alguna precaución que debe tomarse durante el tratamiento?

(Contraindicaciones) Si: ___ No: ___ ¿Cuál (s)? _____, _____,

13.- En qué personas las ha usado:

En niños: ___

En adultos: ___

En ancianos: ___

OBSERVACIONES:

GRACIAS