



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR**  
**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**  
**CARRERA DE ODONTOLOGÍA**

**“Efecto inhibitorio del extracto de manzanilla (*Matricaria Chamomilla*),  
extracto de llantén (*Plantago major l.*) y la combinación del extracto de  
manzanilla y llantén comparado con la clorhexidina sobre cepa de  
*Porphyromona gingivalis*”**

Proyecto de Investigación presentado como requisito para optar por el  
Título de Odontóloga

**AUTOR:** Borja Valverde Valeria Carolina

**TUTORA:** Dr. Juan Pablo Jaramillo Burneo

Quito, Septiembre 2017

## DERECHO DE AUTOR

Yo, Valeria Carolina Borja Valverde en calidad de autor del trabajo de investigación o tesis realizada sobre “Efecto inhibitorio del extracto de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), extracto de llantén (*Plantago major L.*) y la combinación del extracto de manzanilla y llantén comparado con la clorhexidina sobre cepa de *Porphyromona gingivalis*: Estudio In Vitro” por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o de parte de los que contiene esta obra con fines estrictamente académicos o de investigación.

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

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



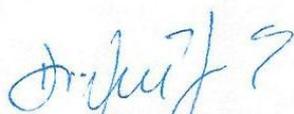
Valeria Carolina Borja Valverde

Id. 0202317012

## APROBACIÓN DEL TUTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Juan Pablo Jaramillo Burneo, en mi calidad de tutor del trabajo de titulación, modalidad Proyecto de Investigación, elaborado por VALERIA CAROLINA BORJA VALVERDE; cuyo título es: “Efecto inhibitorio del extracto de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), extracto de llantén (*Plantago major L.*) y la combinación del extracto de manzanilla y llantén comparado con la clorhexidina sobre cepa de *Porphyromona gingivalis*: ESTUDIO IN VITRO, previo a la obtención del Título como Odontólogo; considero que el mismo reúne los requisitos y méritos necesarios en el campo metodológico y epistemológico, para ser sometido a la evaluación por parte del tribunal examinador que se designe, por lo que APRUEBO, a fin de que el trabajo sea habilitado para continuar con el proceso de titulación determinado por la Universidad Central del Ecuador.

En la ciudad de Quito, a los 17 días del mes de Julio 2017



DR: Juan Pablo Jaramillo Burneo

DOCENTE - TUTRO

CI: 1713048310

## APROBACIÓN DE LA PRESENTACIÓN ORAL/TRIBUNAL

El tribunal constituido por Dra. Dona Vidale Marina Antonia, Dra. Alicia Freire. Luego de receptor la presentación oral del trabajo de titulación previo a la obtención del título de Odontólogo presentado por la Srta. Valeria Carolina Borja Valverde.

Con el título:

**“Efecto inhibitorio del extracto de manzanilla (*Matricaria Chamomilla*), extracto de llantén (*Plantago major L.*) y la combinación del extracto de manzanilla y llantén comparado con la clorhexidina sobre cepa de *Porphyromona gingivalis*”**

Emite el siguiente veredicto:

Fecha: 26 de Septiembre del 2017

Para constancia de lo actuado firman

Nombre Apellido	Calificación	Firma
Presidente: Dra. Marina Dona	_____	_____
Vocal 1: Dra. Alicia Freire	_____	_____

## DEDICATORIA

*A Dios, que siempre me dio las fuerzas necesarias para seguir adelante y cuidó cada uno de mis pasos.*

*A mis padres, Wilson y Esthela quienes siempre fueron mi apoyo incondicional, mi mejor ejemplo, ellos, mis héroes a quienes les debo todo en esta vida.*

*A mis hermanos, Andrea y Wilo que siempre han estado junto a mí, levántandome, y dándome ánimos y amor día a día, a ellos, Mi familia, que creyeron en mí, son mi mayor bendición.*

*A mi pequeño sobrino Anthony, convertido en el amor más puro y sublime, él que con sus cariños me ha hecho inmensamente feliz.*

*Los amo  
Vale*

## AGRADECIMIENTO

*Agradezco infinitamente a Dios por siempre haber cuidado de mí y guiado en esta etapa académica que he culminado.*

*De una manera muy especial y sincera a mi hermosa familia, a mis padres, hermanos y sobrino por haber apoyado entregadamente cada uno de mis pasos, y haber sido un pilar fundamental a la hora de cumplir este gran sueño, sin ellos todo hubiese sido más difícil.*

*A mi querida Universidad Central del Ecuador y con ella a La Facultad de Odontología por sus enseñanzas y por haberme permitido lograr este sueño.*

*A mi tutor Dr Juan Jaramillo por sus conocimientos, y su entrega en la orientación para la realización de ésta investigación.*

*Al Ing. Gonzalo Jácome, responsable del Laboratorio de Química Orgánica en la Escuela Politécnica Nacional y a la Lcda. Yolanda Andrade, encargada del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la UCE, por colaborar con su valioso tiempo y guía en la parte experimental de mi investigación.*

*Al Ing. Jaime Molina, por capacitarme en la parte estadística de mi estudio.*

*Valeria Carolina Borja Valverde*

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

DERECHO DE AUTOR .....	ii
APROBACIÓN DEL TUTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN.....	iii
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTO .....	vi
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	vii
LISTA DE TABLAS .....	x
LISTA DE GRÁFICOS.....	xi
LISTA DE FIGURAS .....	xii
LISTA DE AN.....	xiii
RESUMEN .....	xiv
ABSTRACT .....	xv
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I.....	3
1. EL PROBLEMA .....	3
1.1. Planteamiento del problema.....	3
1.2. Formulación de la pregunta de investigación .....	4
1.3. Objetivos .....	5
1.3.1. Objetivo General .....	5
1.3.2. Objetivo Específicos .....	5
1.4. JUSTIFICACIÓN .....	6
1.5. Hipótesis .....	7
CAPÍTULO II.....	8
2. MARCO TEÓRICO .....	8
2.1 Fitoterapia.....	8
2.2. Manzanilla .....	9
2.2.1. Clasificación Botánica.....	9
2.2.2. Descripción Botánica.....	9
2.2.3. Parte utilizada .....	10

2.2.4. Componentes de la manzanilla .....	10
2.2.5. Acción farmacológica.....	11
2.2.6. Efectos Secundarios.....	12
2.2.7. Usos Reportados .....	12
2.3. Llantén .....	13
2.3.1. Clasificación Botánica.....	13
2.3.2. Descripción Botánica.....	13
2.3.3. Parte Utilizada .....	14
2.3.4. Componentes del Llantén .....	14
2.3.5. Actividad Farmacológica.....	14
2.3.6. Efectos secundarios .....	15
2.3.7. Usos reportados .....	15
2.4. Sinergismo de plantas medicinales.....	16
2.5. Enfermedad Periodontal .....	17
2.5.1. Definición .....	17
2.5.2. Epidemiología.....	18
2.5.3. Etiología .....	18
2.5.4. Biofilm Dental .....	19
2.5. 5. Clasificación .....	20
2.6. La Enfermedad Periodontal Crónica .....	23
2.6.1. Características Generales de la Periodontitis Crónica.....	24
2.7. Porphyromona Gingivalis.....	24
2.7.1. Taxonomía.....	25
2.7.2. Estructura y morfología .....	25
2.7.3. Factores de virulencia.....	25
2.8. Gluconato de Clorhexidina.....	27
2.8.1. Espectro de acción. ....	28
2.8.2. Mecanismo de acción .....	28
2.8.3. Indicaciones y usos.....	28
2.8.4.Toxicidad.....	29
2.8.5. Efectos colaterales .....	29

CAPÍTULO III .....	30
3. Metodología.....	30
3.1. Diseño de la Investigación.....	30
3.2. Población de estudio y muestra .....	30
3.2.1. Unidad de investigación .....	30
3.3. Criterios de inclusión y exclusión .....	31
3.4. Conceptualización de variables.....	32
3.4.1. Variables Independientes .....	32
3.4.1.1. Extracto de Manzanilla .....	32
3.4.1.2. Extracto de llantén: .....	32
3.4.1.3. Extracto de la combinación de manzanilla y llantén: .....	32
3.4.2. Variables Dependientes.....	32
3.4.2.1. Efecto Inhibitorio: .....	32
3.5. Materiales y métodos .....	34
3.5.1. Infraestructura .....	34
3.5.2. Técnicas y procedimientos.....	34
3.6. Eliminación de desechos .....	52
3.7. Aspectos Bioéticos.....	53
3.7.1. Bondad Ética .....	53
3.7.2. Confidencialidad .....	53
CAPÍTULO IV .....	54
4. PROCESAMIENTO DE DATOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS .....	54
4.2. Análisis Estadístico .....	55
CAPÍTULO V .....	62
DISCUSIÓN.....	62
CAPÍTULO VI.....	65
CONCLUSIONES.....	65
RECOMENDACIONES .....	66
BIBLIOGRAFÍA .....	67
ANEXOS .....	71

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Clasificación de la Enfermedad Periodontal .....	21
Tabla 2. Clasificación de la Periodontitis .....	22
Tabla 3: Grupos de estudios .....	31
Tabla 4. Cantidad de alcohol en la muestra de manzanilla ( <i>matricaria chamomilla</i> ).....	39
Tabla 5. Cantidad de alcohol en la muestra de llantén .....	39
Tabla 6. Halos de Inhibición .....	54
Tabla 7. Pruebas de normalidad Kolmogorov-Smirnov .....	55
Tabla 8. Estadísticos descriptivos de las cinco variables .....	56
Tabla 9. Efectividad Inhibitoria según las Pautas de Duraffourd.....	57
Tabla 10. Combinación dos a dos de sustancias.....	60

## **LISTA DE GRÁFICOS.**

Gráfico 1. Comparación de medias de los halos de inhibición .....	57
Gráfico 2. Efectividad Inhibitoria según las pautas de Duraffourd teniendo en cuenta el total de repeticiones y las sistancias empleadas .....	58
Gráfico 3. Pruebas de Kruskal Wallis .....	59

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 . Planta Manzanilla ( <i>Matricaria chamomilla</i> ) (16).....	10
Figura 2. Planta Llantén ( <i>Plántago major</i> ) (28).....	13
Figura 3. Diagrama de la asociación entre especies subgingivales Fuente: Socransky S, Haffajee AD y cols. Periodontal microbial ecology. Periodontology, 2000 (42)23	
Figura 4. Métodos de extracción (49).....	35
Figura 5. A) Mazanilla ( <i>matricaria chamomilla</i> ).....	36
Figura 6. B) Llantén ( <i>plantágo major l.</i> ) .....	36
Figura 7. Manzanilla ( <i>matricaria chamomilla</i> ), y llantén dentro de la estufa.....	37
Figura 8. Manzanilla y llantén secos .....	38
Figura 9. A) Materia prima dentro de los envases ámbar B) colocación de alcohol etílico al 70% C) envases ámbar de mazanilla y llantén con alcohol .....	38
Figura 10: Sistema de filtración de las muestras .....	40
Figura 11. Rotavapor- Evaporación del alcohol de las muestras .....	40
Figura 12. Extracto de manzanilla, llantén y combinación de extracto de manzanilla y llantén.....	41
Figura 13. Fundamento Difusión en disco- Kirby Bauer .....	42
Figura 14: Cepa Porphyromona Gingivalis: bolsa abierta .....	44
Figura 15. A) Presión de la parte superior de la cepa B) Estriado en la caja Peri con hisopo, C) Colocación en la jarra de anaerobiosis, D) Jarra de anaerobiosis en incubadora a 37°C.....	45
Figura 16: Crecimiento bacteriano Porphyromona Gingivalis Agar Sangre.....	46
Figura 17. Estandarización de la cepa Bacteriana Porphyromona Gingivalis.....	47
Figura 18. Rotulación de las 30 cajas Petri .....	48
Figura 19: Resiembra del inóculo: Porphyromona Gingivalis .....	48
Figura 20. Preparación de cada extracto con los discos de papel embebidos .....	49
Figura 21: Placas con los 5 discos de papel respectivamente.....	50
Figura 22. Jarras de anaerobiosis con cultivos bacterianos Porphyromona Gingivalis.....	50
Figura 23. Cultivo bacteriano Porphyromona Gingivalis con halos de inhibición – Regla milimetrada Hi Antibiotic Zone Scale .....	52

## LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Cepa de Porphyromona Gingivalis ATCC33277 .....	71
Anexo 2. Autorización - Laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria de la Escuela Politécnica Nacional. ....	72
Anexo 3. Autorización - Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador. ....	73
Anexo 4. Protocolo de activación de la cepa bacteriana Porphyromona Gingivalis .....	74
Anexo 5. Permiso para usar espacios de desechos infecciosos en la Clínica Integral .....	75
Anexo 6. Manual de desechos .....	76
Anexo 7. Certificado de la elaboración de la parte experimental del estudio .....	78
Anexo 8. Halos de inhibición .....	79
Anexo 9. Renuncia al trabajo estadístico.....	81

**TEMA:** “Efecto inhibitorio del extracto de manzanilla (*matricaria chamomilla*), extracto de llantén (*plantago major l.*) y la combinación del extracto de manzanilla y llantén comparado con la clorhexidina sobre cepa de *Porphyromona gingivalis*”.

**AUTOR:** VALERIA CAROLINA BORJA VALVERDE

**TUTOR:** DR. JUAN PABLO JARAMILLO BURNEO

## RESUMEN

En la Enfermedad Periodontal el uso de terapias convencionales junto con las complementarias, proporcionan una mayor recuperación de las condiciones periodontales; el mundo moderno está retomando el empleo de la medicina natural para curar o aliviar ciertas enfermedades, no solamente por ser un medio más saludable, eficaz y accesible para la mayor parte de la sociedad, sino porque también brinda un amplio campo para el estudio y la investigación, bajo la perspectiva de que lo empírico tenga un sustento científico. La presente investigación tiene como objetivo demostrar mediante un estudio in – vitro el efecto inhibitorio del extracto de manzanilla (*matricaria chamomilla*), extracto de llantén (*plantago major l.*) y la combinación del extracto de manzanilla y llantén sobre cepa de *Porphyromona gingivalis*. Éste estudio se realizó en 30 cultivos bacterianos, colocando en su interior discos blancos estériles embebidos de cada extracto, tomando como control positivo la Clorhexidina al 0,12% y agua destilada como control negativo. Los resultados obtenidos en este estudio reflejaron un efecto positivo de inhibición de los tres extractos frente a *Porphyromona gingivalis*; demostrando así su potencial inhibitorio en la medición de sus halos de inhibición, obteniendo un promedio de efectividad de 10,20mm para el extracto de manzanilla, el extracto de llantén obtuvo 12,47mm, y la combinación del extracto de manzanilla y llantén un promedio de 16,57mm, siendo mayor el efecto inhibitorio para la combinación de extracto de manzanilla y llantén seguido al halo inhibitorio de la sustancia de control Clorhexidina al 0.12% de 17,50mm; resultando éstos dos últimos estadísticamente similares entre sí, determinados por la prueba de análisis Kruskall Wallis.

**Palabras claves:** *Enfermedad Periodontal, Porphyromona gingivalis, matricaria chamomilla, plantago major*

**THEME:** “Inhibitory effect of chamomile extract (feverfew chamomile), plantain extract (plantago major) and the blend of the chamomile extract and plantain one compared with the chlorhexidine on *Porphyromona gingivalis* stain.”

**AUTHOR:** VALERIA CAROLINA BORJA VALVERDE

**TUTOR:** DR. JUAN PABLO JARAMILLO BURNEO

### ABSTRACT

In the Periodontal disease the use of conventional therapies together with the complementary ones, provide a major recovery of the periodontal conditions; the modern world is retaking the use of the natural medicine to heal or relieve certain diseases, not only for being a healthier, effective and accesible means to the higher part of the society, but because it offers a wide field for study and research, under the perspective that the empirical has a scientific basis. The present research has as aim to demonstrate through an in vitro study, the inhibitory effect of chamomile extract, plantain extract and the blend of chamomile and plantain on *Porphyromona gingivalis* strain. This study was made up in thirty (30) bacterial crops, putting in its interior sterile white embedded discs of each extract, taking as positive control the chlorhexidine at 0,12% and distilled water as negative control. The obtained results in this study reflected a positive effect of inhibition of the three extracts face *Porphyromona gingivalis*; demonstrating thus its inhibitory potential in the measure of its inhibition halos, obtaining an average of the effectiveness of 10,20mm for the extract of chamomile, the plantain extract got 12,47mm, and the blend of the of the chamomile extract and plantain an average of 16,57mm, being higher the inhibitory effect for the blend of the chamomile extract and plantain followed to the inhibitory halo of the control substance Chlorhexidine 0.12% of 17.50mm; resulting these two lasts statistically similar from each other, determined by the Kruskall Wallis analysis test.

**KEY WORDS:** *Periodontal Disease, Porphyromona gingivalis, Feverfew chamomilla, plantago major*

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

  
Lcda. Indira Sterwart.

C.C: 1757623044

Registro Senescyt: 862183198

**UMACAPACITACIÓN**  
CAPACITACIÓN & CONSULTORÍA  
 RUC: 0603266024001  
\* Capacitación & Consultoría  
E-MAIL: umacapacitacion@hotmail.com enter\_pymes@hotmail.com  
Quito: Pasaje Indoamerica Piso 2 Telf: 02-5150-706 / 0993794819

## INTRODUCCIÓN

La cavidad oral posee una microbiota diversa e importante; que se coloniza normal y permanentemente en los individuos, logrando así una homeostasis con el huésped, y ejerciendo sobre éstos un efecto beneficioso. Sin embargo, la presencia de cambios ambientales, físico – químicos, nutricionales, y otros; provocan un desequilibrio en el ecosistema oral, y es ahí donde los patógenos se aprovechan y pueden desencadenar la enfermedad.

Las afecciones de la cavidad bucal constituyen un problema de Salud Pública padecidas por el hombre en todo el mundo dada su alta prevalencia. (1)

A la enfermedad periodontal se la considera como una afección infecciosa-inflamatoria, de etiología multifactorial que afecta a las estructuras que conforman el periodonto en diferentes grados. (2)

La Periodontitis crónica, clínicamente se caracteriza por la presencia de bolsas periodontales, pérdida de inserción al sondeo, destrucción de hueso alveolar y movilidad dentaria, se ha propuesto que el patrón de afección por la enfermedad es bilateral simétrica, con una mayor frecuencia de destrucción en los sitios interdentales. (3)

Bacterias como: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola* y *Campylobacter rectus*, constituyen patógenos importantes de ésta enfermedad; convirtiéndose en el grupo agresivo de la lesión, pero la bacteria predominante de ésta patología es la *Porphyromonas gingivalis*. (4)

En la actualidad, la terapia periodontal consiste en un tratamiento mecánico convencional; con la ayuda de métodos complementarios como el uso de antibióticos para apoyar la terapia; así como de agentes antimicrobianos; es indispensable recalcar que la salud oral, está limitada tanto por factores locales individuales como por factores sociales, que afecta en mayor proporción a la población vulnerable, donde la ruralidad generalmente se ve ligada a un mayor nivel de pobreza, menor nivel educacional y menor nivel socioeconómico (5), lo que indica que no toda la población logra obtener éstos métodos, ya que no disponen de mayores ingresos para solventar un tratamiento dental tradicional; o porque a su vez el

individuo puede exteriorizar varios problemas como resistencias bacterianas o alergias a fármacos. (4)

La clorhexidina es el antiséptico más utilizado en Periodoncia, considerado el de mayor eficacia, concentrado en la reducción de masas bacterianas de los sitios infectados; numerosos ensayos clínicos han evidenciado inhibición de la formación de placa, así como también ha presentado beneficios clínicos y microbiológicos, pero con el pasar del tiempo se ha observado que el uso de este antiséptico puede provocar efectos colaterales. (6)

Por lo anteriormente expuesto se pretende, a través de una evidencia científica presentar una alternativa para el profesional Odontólogo a la hora de recomendar un método complementario para el tratamiento periodontal, que no provoque efectos secundarios y que sea del alcance de toda la población.

Y es así, como la presente investigación; estudio in vitro, busca determinar el efecto inhibitorio de dos plantas medicinales en las que se ha evidenciado valiosa actividad farmacológica, así como del sinergismo de las mismas, mediante la elaboración del extracto de manzanilla (*matricaria chamomilla*), extracto de llantén (*plantago major l.*) y la combinación del extracto de manzanilla y llantén comparado con la clorhexidina sobre cepa de *Porphyromona gingivalis*, microorganismo que afecta gravemente a los tejidos periodontales, recordando que el uso de las plantas medicinales con fines curativos es una práctica que se ha utilizado desde tiempo inmemorial, siendo incluso el único recurso del que disponía la humanidad para prevenir, aliviar o curar un estado patológico y mantener la salud, considerando que en el pasado el uso de éstas era de forma empírica.

En los últimos años la utilización de las plantas medicinales ha ido aumentando en todo el mundo, por lo que hoy en día el uso de éstas, debe hacerse de una forma ética sobre la base de la información precisa y transparente, que permita llegar a un sustento científico validado por numerosos estudios; ésta investigación desea sumarse a dicho sustento, en donde los sistemas de salud los puedan usar con máxima garantía y efectividad.

# CAPÍTULO I

## 1. EL PROBLEMA

### 1.1. Planteamiento del problema

La enfermedad periodontal es una de las enfermedades bucales con mayor frecuencia en el ser humano, constituye la segunda patología más padecida por el hombre después de la caries dental, y afecta a más 75% de población en todo el mundo. (7)

Son infecciones causadas por bacterias periodonto patógenas que colonizan la superficie dentaria en el margen gingival o por debajo de él; provocando así la aparición de signos clínicos de inflamación tisular compleja, destrucción de los tejidos periodontales blandos y duros que dan soporte al diente. (8)

La *Porphyromona gingivalis* es una bacteria Gram negativa, anaerobia estricta; de alta prevalencia, en donde la evidencia científica actual la ha asociado mayoritariamente con la destrucción activa del aparato de soporte periodontal. (9)

En los últimos años, han planteado cuantiosos informes en base a estudios epidemiológicos, en los que las enfermedades periodontales en su mayor extremo se relacionan con enfermedades sistémicas, alteraciones cerebrovasculares, respiratorias, diabetes mellitus y resultados adversos del embarazo, debido a que las bacterias gramnegativas viables del biofilm pueden ingresar al torrente sanguíneo e influir en la salud general y susceptibilidad a ciertas enfermedades; (10) lo cual ha provocado un impacto considerable tanto sobre la Salud Pública general como sobre los recursos económicos dedicados a mantenerla. (11)

La salud oral, está condicionada tanto por factores locales individuales como por factores sociales, comunitarios, económicos, culturales, ambientales y geográficos; afecta en mayor proporción a la población vulnerable, entre estos últimos la condición urbano-rural, así la ruralidad generalmente se ve ligada a un mayor nivel de pobreza, menor nivel educacional y menor nivel socioeconómico. (5)

El tratamiento de la enfermedad periodontal, hoy en día consiste en un tratamiento mecánico convencional; orientados a minimizar la carga bacteriana: (tartrectomía, raspado y alisado radicular) y químicos (agentes antimicrobianos, antibióticos); mediante el uso de sustancias bacteriostáticas y bactericidas. (4)

A pesar de los esfuerzos tanto de la medicina como de la industria farmacéutica, el incremento en la prevalencia de resistencia en bacterias patógenas frente a antibióticos se ha convertido en uno de los mayores problemas en la medicina moderna. El área odontológica tampoco se encuentra exenta, siendo común el uso excesivo de antibióticos lo que contribuye al desarrollo de resistencia antimicrobiana. (12)

Muchos han sido los factores que han contribuido al incremento de cepas multiresistentes a antibióticos, entre ellos su uso inadecuado e indiscriminación de los fármacos, transformándose en un serio problema clínico, es entonces necesaria la planificación de modalidades alternativas que permitan curar las infecciones en la medicina moderna, así como también infecciones de la boca. (11)

Han sido las plantas las que ocupan un lugar preponderante en la vida de muchos pobladores, especialmente en éstas comunidades que dependen, casi exclusivamente, de los recursos vegetales para curar sus dolencias (5)

Por todo ello, se intenta sugerir una oferta oportuna sobre el uso idóneo de fitoterapia, que se convierta en una herramienta valiosa como método complementario en el tratamiento de la enfermedad periodontal.

## **1.2. Formulación de la pregunta de investigación**

¿Tiene efecto inhibitorio el extracto de manzanilla (*matricaria chamomilla*), extracto de llantén (*plantago major l.*) y la combinación del extracto de manzanilla y llantén; y cuán eficaz es frente a cepa de *Porphyromona gingivalis* ?

### **1.3. Objetivos**

#### **1.3.1. Objetivo General**

- Determinar el efecto inhibitorio del extracto de manzanilla (*matricaria chamomilla*), extracto de llantén (*plantágo major l.*) y la combinación del extracto de manzanilla y llantén sobre cepa de *Porphyromona gingivalis*

#### **1.3.2. Objetivo Específicos**

- Determinar el efecto inhibitorio del extracto de manzanilla (*matricaria chamomilla*), sobre cepa de *Porphyromona gingivalis*.
- Determinar el efecto inhibitorio del extracto de llantén (*plantágo major l.*), sobre cepa de *Porphyromona gingivalis*.
- Determinar el efecto inhibitorio de la combinación del extracto de manzanilla y llantén, sobre cepa de *Porphyromona gingivalis*.
- Identificar qué extracto posee mayor efecto inhibitorio frente a cepa de *Porphyromonas gingivalis*.
- Comparar el efecto inhibitorio del extracto de manzanilla (*matricaria chamomilla*), extracto de llantén (*plantágo major l.*) y la combinación del extracto de manzanilla y llantén; con la Clorhexidina al 0,12% sobre cepa de *Porphyromonas gingivalis*.

## 1.4. JUSTIFICACIÓN

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) las enfermedades periodontales se han convertido en una de las más prevalentes entre las patologías bucales, afecta entre el 60 y 90% de la población; por lo que se las considera como un problema de Salud Pública a nivel mundial. (13)

Claramente la periodontitis es más significativa: causada por infecciones bacterianas que llegan afectar los tejidos de soporte del diente, ocasionando pérdida de dientes, discapacidad, disfunción masticatoria y estado nutricional deficiente: por lo que de manera indiscutible reduce la calidad de vida de las personas. (14)

En la actualidad, la terapia periodontal generalmente se concentra en la reducción de masas bacterianas de los sitios infectados, existiendo métodos complementarios como el uso de antibióticos para apoyar la terapia; así como de agentes antimicrobianos; métodos que no toda la población logra obtener ya que no disponen de mayores ingresos para solventar un tratamiento dental tradicional; o porque a su vez en el individuo puede exteriorizar varios problemas como resistencias bacterianas o alergias a fármacos. (4)

Además que el Gluconato del Clorhexidina; agente microbiano más utilizado en Odontología, después de un tiempo prolongado de uso ocasiona efectos colaterales como la tinción de los dientes o alteraciones en el gusto, incluso estudios han evidenciado que en ocasiones provoca un aumento del cálculo supragingival. (6)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) elaboró un catastro de las plantas que aparecen indicadas en la farmacopea de 73 países donde el llantén y manzanilla se encuentra en nueve de ellas, lo que ha provocado que sean una de las especies más estudiadas, tanto desde el punto de vista bioquímico como farmacológico; gran interés está dado también por sus cualidades medicinales, dentro de las cuales se ha señalado hasta un efecto anticancerígeno. (15)

Por todo ello, es que se anhela trabajar con otro tipo de terapia complementaria , donde se pretende utilizar plantas naturales como alternativa y que sean de gran utilidad tanto en el sector rural como urbano, de bajo costo y simple accesibilidad; convirtiéndose en una promoción de estilos de vida saludables a fin de mejorar las condiciones de salud; demostrando en ésta ocasión mediante un estudio in – vitro el efecto inhibitorio del extracto de manzanilla (*matricaria chamomilla*), extracto de llantén ( *plantágo major l.*) y la combinación del extracto de manzanilla y llantén , plantas que en estudios anteriores se ha observado que poseen gran actividad antimicrobiana; acotamiento importante para tratar la Enfermedad Periodontal, actuando sobre su principal bacteria, la Porphyromona Gingivalis; microorganismo que afecta gravemente a los tejidos periodontales.

Contribuiría también a los profesionales Odontólogos, quienes podrán encontrar motivos importantes evidenciados a la hora de recomendar esta alternativa para el tratamiento periodontal.

## **1.5. Hipótesis**

### **Hipótesis de Investigación**

- El extracto de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), extracto de llantén ( *Plantágo major l.*) y la combinación del extracto de manzanilla y llantén posee efecto inhibitorio sobre cepa de *Porphyromona gingivalis*; siendo el mayor efecto inhibitorio de la combinación del extracto de manzanilla y llantén.

### **Hipótesis Nula**

- El extracto de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), extracto de llantén ( *Plantágo major l.*) y la combinación del extracto de manzanilla y llantén no poseen efecto inhibitorio sobre cepa de *Porphyromona gingivalis*.

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Fitoterapia

A principios del siglo XX, el término fitoterapia fue acuñado por el médico francés Henri Leclerc, neologismo formado a partir de dos vocablos griegos: *phytón* (planta) y *therapeía* (tratamiento). Etimológicamente, por tanto, Fitoterapia se refiere al tratamiento de las enfermedades con plantas. (15)

El uso de las plantas medicinales con fines curativos es una práctica que se ha utilizado desde tiempo inmemorial. Durante mucho tiempo los remedios naturales, y sobre todo las plantas medicinales, han sido el principal e incluso el único recurso del que disponían la humanidad, esto hizo que se estudie a profundidad a las especies vegetales que poseen propiedades medicinales (16); permitiendo identificar y aislar compuestos químicos con actividad biológica o actividades farmacológicas, llamados principios activos, lo cual ha permitido que se amplié su experiencia en el empleo de los productos que de ellas se extraen. (17)

En muchos países del mundo, se empieza a desarrollar un cambio importante en cuanto al estudio y empleo de las plantas medicinales; como respuesta de un llamado realizado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1977, con el fin de recuperar la “medicina tradicional” y validar el conocimiento que sobre ella se tenía con el debido rigor científico. (18)

Actualmente, se define a la fitoterapia como la utilización de los productos de origen vegetal con finalidad terapéutica, para prevenir, aliviar o curar un estado patológico, o con el objetivo de mantener la salud. Hoy en día existe una base científica que apoya la eficacia de muchos productos fitoterápicos para determinadas indicaciones. Demostrando así, que el lugar que debe ocupar la Fitoterapia en terapéutica debe ser aquél para el cual se ha demostrado su utilidad. (15)

Las plantas medicinales en unos casos será suficiente para curar una patología y en otros será el coadyuvante de otras medicaciones, o ayudará a aliviar determinados síntomas

asociados. Su principal campo de acción son las afecciones leves y moderadas, así como las enfermedades crónicas, siendo útil en la terapia de más del 90% de las afecciones tratadas habitualmente en atención primaria. (15)

Muchas comunidades en América Latina dependen de medicinas herbales para el cuidado de su salud.

Ecuador es un país muy diverso, se encuentra entre los 12 países con mayor cantidad de especies vegetales del mundo, en éste país se pueden encontrar una gran variedad de plantas con usos medicinales que se expenden en mercados de la Sierra, Costa y Amazonía característica y motivo importante para el estudio de varias plantas que pueden ser útiles como alternativa al tratamiento convencional. (19)

## **2.2. Manzanilla**

### **2.2.1. Clasificación Botánica**

**2.2.1.1. Nombre Científico:** Matricaria Chamomilla

**2.2.1.2. Familia:** Compuestas

**2.2.1.3. Hábitat:** Es una planta herbácea originaria del sudeste de Europa, y de allí se ha extendido a todos los continentes, principalmente a América. Hoy en día la manzanilla se la puede conseguir en todo el mundo ya que es muy resistente a cualquier clima. (15)

### **2.2.2. Descripción Botánica**

La manzanilla es una hierba aromática anual que ha sido utilizada desde hace siglos con fines medicinales. Posee un tallo cilíndrico, erguido, ramoso, de hasta 50 o 60 cm de altura. Presenta hojas alternas y sésiles. En posición terminal, presenta una inflorescencia en forma de capítulo paniculado. Las flores radiales son unas 20, con la lígula blanca que cuelgan a medida de acuerdo a su maduración y flósculos amarillos pentalobulados en un receptáculo cónico. Las flores son un poco amargas y fragantes, por lo que desprenden un olor característico a manzana, de ahí el nombre de manzanilla. Crece en tierras cultivadas, en terrenos arenosos y baldíos. (20)



**Figura 1 .** Planta Manzanilla (*Matricaria chamomilla*) (16)

### **2.2.3. Parte utilizada**

Morón Rodríguez Francisco y col. (21), indican que los capítulos florales son considerados como la parte más activa de la planta, pues es allí donde se encuentran la mayor cantidad de compuestos químicos. Se recogen las cabezuelas en el momento de la floración, y se lo puede mantener en un lugar a la sombra y aireado.

### **2.2.4. Componentes de la manzanilla**

Según estudios realizados por un grupo de expertos de "Botanical-online SL" (22), señalan que la manzanilla tiene principios activos excelentes para la salud, estos son:

- Vitamina C, betacarotenos, colina
- Hidratos de carbono: fructuosa, galactosa (planta), glucosa (flor), mucílagos
- Ácidos grasos: linoleico, palmítico, oleico.
- Flavonoides: apigenina, hiperosido, aigetrina, quercetina, rutina, apiína
- Ácido antémico, salicílico, cafeico, gentisico, pectico (planta).
- Sesquiterpenos azuleno, alfa-bisabolol (50%), camazuelo (1-15%), farneseno, cadineno, furfural, Proazulenos matricarina, matricina. (23)

### 2.2.5. Acción farmacológica

- Antiinflamatoria potente (matricina, camazuleno, alfa-bisabolol, y flavonoides). El camazuleno inhibe la 5-lipooxigenasa y la síntesis de leucotrienos (LTB4) y la apigenina bloquea la adhesión de leucocitos. Inhibición de la transcripción de los genes COX-2 (flavonoides). (24)
- Espasmolítica produce relajación del músculo liso (apigenina, flavonoides, alfa-bisabolol). (21)
- Antiulcerosa (alfa-bisabolol y flavonoides). El alfa-bisabolol reduce la actividad proteolítica de la pepsina y ejerce un efecto protector frente a la formación de úlcera péptica por diversos agentes (ácido acetilsalicílico, etanol, estrés, indometacina). (16)
- Carminativa y eupéptica por aumentar la producción de jugos gastrointestinales lo que favorece las digestiones (aceite esencial, flavonoides, lactonas sesquiterpénicas). (16)
- Antiséptica antimicrobiana, sobre todo frente al trichomonas vaginalis (flavonoides, alfa-bisabolol, espiroéteres).
- Sedante suave y ligeramente hipnótica (aceite esencial, flavonoides). La apigenina ejerce un ligero efecto sedante por ser un agonista del receptor de benzodiazepinas (16)
- Antialérgica por el efecto antihistamínico del camazuleno y antieczematosa.- Antioxidante y captadora de radicales libres (camazuleno, flavonoides y triterpenos). Inmunoestimulante (polisacáridos).
- Cicatrizante de piel y mucosas, reepitelizante y suavizante (mucílagos).
- Colagogo: Estimula a la expulsión de la bilis por parte de la vesícula
- Diurético: Favorece la eliminación de líquidos en el cuerpo, esta propiedad resulta interesante en caso de obesidad o sobrepeso.
- Emenagogas: Es un buen remedio para la mujer, es decir que facilita el flujo de la mujer, su periodicidad y cantidad. Por sus propiedades antiespasmódicas y sedantes ayuda aliviar.
- Estética sus aplicaciones externas se emplean para el tratamiento de la piel y el aclarado del cabello rubio (camomila), al igual que en el cuidado del cuero cabelludo. (20)

### **2.2.6. Efectos Secundarios**

El uso prolongado de manzanilla puede provocar mareos y vómitos. La planta fresca puede ocasionar dermatitis por contacto a personas hipersensibles. (16)

### **2.2.7. Usos Reportados**

El extracto fluido de manzanilla ha presentado actividad espasmolítica en órganos separados demostrando una disminución significativa en las contracciones del yeyuno. - Estudio in vitro. (21)

Según el estudio descriptivo demostrado en el artículo “Camomile and their medicinal properties”; basado en su dosis de consumo recomendado por Valera Jorge (2013), se pudo evidenciar que la manzanilla contiene principios activos que coadyuvan a la mejoría de algunos malestares y dolores. Actúa como un excelente desinflamante, calmante, ligeramente sedante y relajante. (25)

Estudios in vitro realizado por Pereira y cols en el 2006 han mostrado que tinturas de *Matricaria chamomilla* tienen efectos sobre ciertos microorganismos formadores de biofilm comparable al de la clorhexidina. (26)

En el año 2012 se realizó un ensayo clínico caracterizado por la aplicación de un Colutorio de extracto de manzanilla donde se evidenció una reducción relevante en la inflamación gingival. (24)

Linares J (27) indica que la utilización terapéutica en endodoncia relacionada con el uso manzanilla podría aplicarse para una de las fases del procedimiento clínico, ya sea como irrigante durante la sesión o como medicación intraconducto entre sesiones.

## 2.3. Llantén

### 2.3.1. Clasificación Botánica

**2.3.1.1. Nombre Científico:** Plántago major L.

**2.3.1.2. Familia:** Plantagináceas

**2.3.1.3. Hábitat:** Es nativa de Europa, convertida en maleza universal; abunda en el continente americano. (16)

### 2.3.2. Descripción Botánica

El *Plantágo major* es una hierba anual que crece hasta 60cm de altura, de hojas escasas en roseta basal, ovaladas y elípticas de 5 a 20 cm de largo. Flores blanco verdoso, pequeñas; en espigas 10 a 20 cm de largo; Los frutos del llantén poseen cápsulas de semillas ovaladas, 3 a 4 mm, 2 celdas con 6 a 30 semillas ovoides, anguladas, café o negro, cubiertas de mucílago. (28)



**Figura 2.** Planta Llantén (*Plántago major*) (29)

### **2.3.3. Parte Utilizada**

Son las hojas y semillas las más utilizadas por presentar en éstas la mayor parte de los componentes químicos. (19)

### **2.3.4. Componentes del Llantén**

- Fibra: mucílago ,
- Flavonoides: taninos, apigenina, nepetina, plantaginina , homoplanguina
- Alcaloides: Plantagonina, indicáina
- Glucósidos iridoides (asperulósido, aucubósido),
- Ácidos: ácido cafeico , ácido clorogénico, neoclorogénico, cinámico , salicílico, cafeico , cítrico, ursólico, plateólico, fumárico.
- Agua
- Proteínas
- Azúcares Sacarosa, fructosa, xilitol, sorbitol
- Vitaminas: Ácido ascórbico Vitamina C, Betacarotenos , Vitamina K
- Minerales: Potasio, magnesio, calcio, sicio, manganesio, otros (16)

### **2.3.5. Actividad Farmacológica**

El llantén contiene gran cantidad de mucílago, tipo de fibra viscosa que le da propiedades emolientes, antusígenas, antigástricas, antiinflamatorias y béquicas. (17)

Utilizada principalmente en el tratamiento natural de enfermedades respiratorias, gracias a su contenido de aucubina que ayuda a calmar la tos. Posee actividades descongestionantes y expectorantes.

Posee un efecto antibiótico por su contenido en taninos, por lo que también posee actividades astringentes que ayudan a parar la diarrea. (16)

Analgésico: Ayuda a disminuir el dolor de las úlceras del estómago, también actúa como hepatoprotector.

Diurético y vulneraria es decir tiene la propiedad de desinfectar las heridas y favorecer a la cicatrización. (16)

En un estudio, algunos compuestos puros que se encuentran en el extracto de la planta mostraron una potente actividad antiviral. Entre ellos, el ácido cafeico mostró una fuerte actividad contra el virus del herpes (HSV-1 y HSV-2) y adenovirus (ADV-3) y el ácido clorogénico mostró que la actividad contra el adenovirus 11 (ADV-11) (28)

Estudios clínicos han comprobado sus efectos anti-inflamatorios, anti-oxidantes analgésico, antibiótico, actividad inmunomoduladora y anti-ulcerogénicos. También indica su actividad celular anti-proliferativa en líneas celular de cáncer. (30)

El llantén por vía tópica actúa sobre úlceras de las encías y enfermedades de la piel, en heridas y quemaduras. Posee propiedades analgésicas, astringentes, expectorante, cicatrizante y hemostático. (31)

### **2.3.6. Efectos secundarios**

Normalmente esta planta no produce efectos secundarios, pero en muy pocos casos ha ocasionado dermatitis por contacto. (16)

### **2.3.7. Usos reportados**

El fitomedicamento realizado con extracto etanólico de *Plantago major* demuestra estadísticamente una gran actividad gastroprotectora. En éste artículo el análisis microbiológico mostró ausencia de bacterias patógenas y dentro la prueba cicatrizante que se hizo, también existió actividad cicatrizante. (32)

Rodríguez Ayní y cols, en su estudio demostraron que el Llantén presenta actividad antifúngica muy efectiva ante la *Cándida Albicans*. Estudio in vitro. (33)

Estudio realizado en La Habana, Cuba, en enero del 2002, en 25 pacientes portadores de patología bucodentarias, como la gingivitis en el que se intentó demostrarla capacidad antiinflamatoria, analgésica y cicatrizante de un gel de llantén. Demostró, que éstos pacientes, tuvieron una evolución muy favorable con el método indicado. No se reportaron reacciones adversas, ni irritaciones dérmicas en los pacientes tratados. (34)

Neumann Fumeron (30) en el 2013 evidencia en su artículo que el uso de colutorio de llantén durante el periodo del post operatorio de las exodoncias de multiradiculares mejora la capacidad de cicatrización natural del organismo.

## **2.4. Sinergismo de plantas medicinales**

Antiguamente curanderos folclóricos empleaban muchas recetas y formulaciones basadas en mezclas de extractos de plantas medicinales, como remedios efectivos para curar o aliviar una determinada enfermedad, lo que conlleva a imaginar las innumerables mezclas que se pueden investigar, sin embargo, los estudios biológicos y fotoquímicos de plantas medicinales se reportan en forma individual, pero muy poco sobre sus mezclas. (35)

Arnazón y colaboradores en el año 2004, señala que existen algunos estudios donde se ha encontrado sinergismos entre extractos. Se considera que los compuestos se complementan entre sí para brindar una potencia mayor a la suma de cada uno de los componentes de las mezclas de plantas medicinales; pero no se debe excluir la probabilidad de la formación de un nuevo componente responsable de tal efecto.

Así como también considerar, que si bien es cierto que las plantas medicinales son las responsables de las propiedades terapéuticas que se les otorga, también lo son de las intoxicaciones y reacciones adversas que pueden aparecer si se emplean en dosis inadecuadas o por períodos no apropiados, factor de mayor importancia a la hora de producir un sinergismo entre éstas, por lo que para realizar dicha acción debe estar sustentada científicamente el uso eficaz, seguro y racional de las plantas medicinales. (18)

El artículo denominado “Aloe Vera, llantén y mentol para uso odontológico” realizado en Costa Rica, donde se elaboró un gel con la mezcla de éstos tres componentes y se los aplicó a pacientes post-quirúrgicos a extracciones dentales; demostró una diferencia significativa en la recuperación y cicatrización de tejidos; de aquellos que se utilizó la planta medicinal individualmente; sin embargo éste artículo señala que se debería realizar más estudios que demuestren lo expuesto ya que éste fue realizado con una mezcla pequeña. (34)

Lo expuesto anteriormente, motivó a Freddy Pérez Azahuanche y cols en el año 2010, a la ejecución de un estudio con una mezcla de extractos de dos plantas medicinales de uso común (mentól y anís), para demostrar la mayor efectividad curativa de los extractos de las plantas medicinales debido al sinergismo de éstas, o si existe la presencia de un nuevo componente que ayude a potenciar dicha efectividad. Este estudio a través de un análisis cromatográfico indicó que una vez obtenida la mezcla de los dos extractos se evidenció la

presencia de un nuevo componente, dejando éste acotamiento de gran utilidad que impulsa a la realización de estudios posteriores, acerca del sinergismo. (35)

## **2.5. Enfermedad Periodontal**

### **2.5.1. Definición**

Botero J. (36) la define como una enfermedad infecciosa-inflamatoria, de etiología multifactorial que afecta a las estructuras que conforman el periodonto en diferentes grados.

Se define también como infecciones causadas por bacterias periodonto patógenas que colonizan la superficie dentaria en el margen gingival o por debajo de él; provocando así la aparición de signos clínicos de inflamación tisular compleja, destrucción de los tejidos periodontales blandos y duros que dan soporte al diente en los que se incluye hueso alveolar, ligamento periodontal y encía. (37) (38)

La enfermedad periodontal es la causa más importante de la pérdida de dientes y de la halitosis en la edad adulta, según lo han demostrado diferentes investigadores (Löe y Theilade, 1965), (Ramfjord, 1959), y esto ocurre en pacientes cada vez más jóvenes, (Lindhe, Socransky). (39) En su forma más leve se presenta como gingivitis la cual se caracteriza por la inflamación limitada de la encía, debido al acúmulo de placa bacteriana alrededor de los dientes, es decir en el periodonto de protección, que se elimina mediante un control cuidadoso de la misma y es reversible; mientras que la periodontitis es un proceso destructivo y progresivo que afecta al ligamento periodontal, cemento y al hueso alveolar, es decir al periodonto de inserción, donde su proceso de destrucción ósea es irreversible. (29)

Lindhe (37) considera entonces que las reacciones inflamatorias e inmunitarias que se desarrollan en respuesta a la placa bacteriana, son características predominantes de la gingivitis y periodontitis; ésta reacción inflamatoria es notoria tanto en el examen clínico como en el análisis microscópico del periodonto afectado.

### 2.5.2. Epidemiología

Según la Organización Mundial de la Salud, la enfermedad periodontal es una de las enfermedades bucales más frecuentes en el ser humano, ocupa el segundo lugar dentro de las afecciones bucales más padecidas por el hombre, afecta entre el 60 y 90% de población en todo el mundo, dentro del cual el 50% se debe a la Gingivitis. (7)

Generalmente afectan a todas las personas en alguna etapa de su vida y pueden comenzar desde edades muy tempranas. (36)

### 2.5.3. Etiología

Hoy en día las enfermedades periodontales son consideradas como un grupo de enfermedades infecciosas, complejas, donde las bacterias constituyen un factor esencial etiológico pero no suficientes para producir por sí mismas las patologías (40). Éstas son solamente el estímulo para el sistema inmune, donde actúan varios mecanismos de defensa que al tratar de parar la infección, provocan un desequilibrio en el metabolismo de los tejidos periodontales, causando la pérdida de soporte periodontal. (41)

Es así que como en cualquier otra enfermedad se requiere de otros factores para que el ciclo infeccioso se desarrolle.

1. La susceptibilidad del huésped (respuesta inmune local o sistémica alterada), pueden ser los adquiridos a lo largo de la vida, los medioambientales y los genéticos,
2. Ausencia de bacterias consideradas beneficiosas y
3. Presencia de microorganismo periodonto patógenos. (42)

Se cree que 700 especies diferentes son capaces de colonizar la cavidad oral y que un individuo aloja 150 especies distintas. (38)

Tres especies *A. Actinomycetemcomitans*, *Porphyromona Gingivalis*, y *Tannerella Forsythia*, están estrechamente relacionadas con la enfermedad periodontal y la progresión de la enfermedad. Como tales, éstas especies fueron designadas por el Informe Consensuado (Consensus Report), del Congreso Mundial de Periodontología de 1996, donde se las designó como patógenos periodontales. (38) Otras especies como el *F nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Prevotella intermedia*, *Pr. Nigrescens*, *E. nodatum* y *Pe. Micros*

también pueden causar enfermedades periodontales, aunque sus datos como su papel causal son menos claros. (43)

Estos microorganismos se encuentran en el proceso destructivo de las enfermedades periodontales a través de la evasión de las defensas del huésped, invasión de los tejidos periodontales y elaboración de enzimas destructoras de los tejidos. (41)

#### **2.5.4. Biofilm Dental**

Socransky y cols (43) lo define como comunidades de microorganismos, unidos a una superficie sólida, embebidos en un glicocáliz. El motivo de la existencia de un biofilm, es que permite que estos microorganismos se adhieran a las superficies y se multipliquen, desplegando una amplia gama de características que ofrecen una serie de ventajas sobre aquellas bacterias solas.

También permite proteger a la especie colonizadora frente a mecanismos competitivos de factores ambientales, así como los mecanismos de defensa del huésped y de sustancias potencialmente tóxicas que se encuentran en el ambiente, como productos químicos o antibióticos letales.; además de permitir la nutrición cruzada, eliminación de metabolitos perjudiciales, así como el desarrollo de ambiente fisicoquímico apropiado. (37)

##### ***2.5.4.1 Estructura del Biofilm***

Carranza (8) menciona que dicha comunidad heterogénea, de estructura compleja está formada por un 15- 25% de células bacterianas y un 75- 85% de agua y matriz extracelular; generalmente polisacáridos segregados por las bacterias.

Conforme a su ubicación y relación con el margen gingival, el biofilm se diferencia en supragingival y subgingival.

##### ***2.5.4.2. Biofilm Supragingival***

Báscones (44) señala que el biofilm supragingival se desarrolla básicamente sobre la superficie dental próxima al margen gingival, primordialmente en áreas fisuradas, rugosas y restauraciones desbordantes.

La adherencia de nuevas bacterias con su posterior multiplicación y maduración define el crecimiento y la sucesión microbiana; son gérmenes Gram positivos los principales

colonizadores en éste biofilm cuya unión se da por la formación de polisacáridos que éstas bacterias crean. (8)

El valor patogénico que recibe el biofilm supragingival es el de ser el autor del crecimiento, acumulación y progresión del biofilm subgingival. (44)

#### **2.5.4.3. Biofilm Subgingival**

Aquí se encuentran organismos predominantes que difieren de los que existen coronalmente al margen gingival (37). El surco gingival debido a su morfología no permite que se logre la actividad autolimpiante propia de la boca, lo que conlleva a que microorganismo que aún sin poseer la capacidad de adhesión a la superficie dental, logren colonizar sin dificultad, formando también la bolsa periodontal. El potencial de óxido – reducción es bajo en el surco gingival por lo que microorganismos anaeróbicos estrictos pueden colonizar en ésta área. (8) Existen dos tipos de biofilm subgingival. Uno asociado al diente que no cambia mucho del que se encuentra en casos de la gingivitis, donde también hay un dominio de microorganismos, pero están ausentes en las partes más profundas de la bolsa periodontal lo que permite que no exista una orientación particular. Y otro asociado al epitelio, el cual invade y penetra en el tejido conectivo gingival demostrando una marcada diferencia de capas de microorganismos en éstas zonas. (3)

Entonces, será ésta parte del biofilm, el responsable de las bacterias invasoras localizadas en el interior de los tejidos gingivales; invasión bacteriana que se ha encontrado en casos de la periodontitis crónica. (43)

#### **2.5. 5. Clasificación**

La clasificación de Enfermedades Periodontales presentada en el International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions, organizado por la American Academy of Periodontology el 2 de Noviembre de 1999, es la que se usa en la actualidad a nivel mundial, Esta clasificación las divide en grupos de estudio, las mismas que resultan útiles a la hora de establecer un diagnóstico, determinar el pronóstico y facilitar la planeación del tratamiento. (44)

Así tenemos entonces:

- a. Enfermedades Gingivales (Gingivitis)
- b. Enfermedades Periodontales (Periodontitis)

**Tabla 1: Clasificación de la Enfermedad Periodontal**

<b>Enfermedades de las encías ( Gingivitis)</b>	<b>Abscesos del periodonto</b>
Enfermedades gingivales inducidas por placa	Absceso gingival
Enfermedades gingivales no inducidas por placa	Absceso periodontal
	Absceso pericoronario
<b>Enfermedades Periodontales</b>	<b>Periodontitis relacionada con lesiones endodónticas</b>
<b>Periodontitis crónica</b>	Lesión endodóntica – periodontal
Localizada	Lesión – periodontal - endodóntica
Generalizada	Lesión combinada
<b>Periodontitis Agresiva</b>	<b>Malformaciones y lesiones congénitas o adquiridas</b>
Localizada	Factores localizados y relacionados con dientes que predisponen a enfermedades gingivales inducidas por placa o periodontitis
Generalizada	Malformaciones mucogingivales y lesiones alrededor de los dientes
<b>Periodontitis como manifestación de enfermedades sistémicas</b>	Malformaciones mucogingivales y lesiones en rebordes desdentados
Asociada con enfermedades hematológicas	Trauma oclusal
Asociada con desórdenes genéticos	
Otros no específicos	
<b>Enfermedades periodontales necrotizante</b>	
Gingivitis ulcerativa necrotizante (NUG)	
Periodontitis ulcerativa necrotizante (NUP)	

Fuente: Armitage – Ann Periodontal 1999 (8)

### **2.5.5.1. Gingivitis**

La gingivitis se caracteriza fundamentalmente por la inflamación de la encía, ‘esta es una condición reversible que se produce como consecuencia de inadecuado control de la placa bacteriana; proceso inflamatorio que se encuentra afectando únicamente a los tejidos supragingivales. (8)

Desde un punto de visto histopatológico y atendiendo a un grado de lesión tisular creciente, se ha clasificado a la gingivitis como Fase I o lesión inicial, gingivitis subclínica con predominio de polimorfonucleares y vasculitis subepitelial. Fase II o lesión precoz con sangrado al sondaje, eritema gingival y predominio de linfocitos. Fase III O Lesión establecida, fase de gingivitis crónica con cambios de color, tamaño y textura con predominio de células plasmáticas. (42)

Debido al proceso inflamatorio por el primer signo clínico por el que atraviesan es la hemorragia y pueden presentar cambios de color, tamaño y forma, así mismo, alteración en su consistencia y textura, incluso en algunos casos presencia de dolor, ya sea provocado o espontáneo. (42)

## Clasificación

Gingivitis inducidas por placa

Gingivitis no inducida por placa

### 2.5.5.2. Periodontitis

Lindhe (37) define a la Periodontitis como una enfermedad inflamatorio de los tejidos de soporte de los dientes provocada por microorganismos o grupo de microorganismos específicos, que tiene como resultado la destrucción progresiva del ligamento periodontal y el hueso alveolar con formación de bolsas, recesión o ambas.

## Clasificación

Se presentan tres manifestaciones clínicas: (8)

**Tabla 2. Clasificación de la Periodontitis**

<p><b>🚩 Periodontitis Crónica</b></p> <p>Es la forma más común de periodontitis. E presenta más en adultos. Puede ser:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>Forma Localizada : &lt; 30% de sitios implicados</li><li>Forma Generalizada: &gt; 30% de los sitios implicados</li></ul> <p>Leve: 1- 2 mm de pérdida clínica de inserción</p> <p>Moderada: 3- 4 mm de pérdida clínica de inserción</p> <p>Grave: &lt; 5 mm de pérdida clínica de inserción</p>	<p><b>🚩 Periodontitis como manifestaciones de enfermedades sistémicas</b></p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Trastornos hematológicos</li><li>2. Trastornos genéticos</li></ol>
<p><b>🚩 Periodontitis Agresiva</b></p> <p><b>Forma localizada</b></p> <p>Localizada en el primer molar o incisivo con pérdida de la inserción en dos dientes permanentes, por lo menos, uno de los cuales es un primer molar</p> <p><b>Forma generalizada</b></p> <p>Pérdida de la inserción proximal generalizada que afecta tres dientes, por lo menos, que no sean los primeros molares e incisivos</p>	

**Fuente:** Armitage – Ann Periodontol 1999 (8)

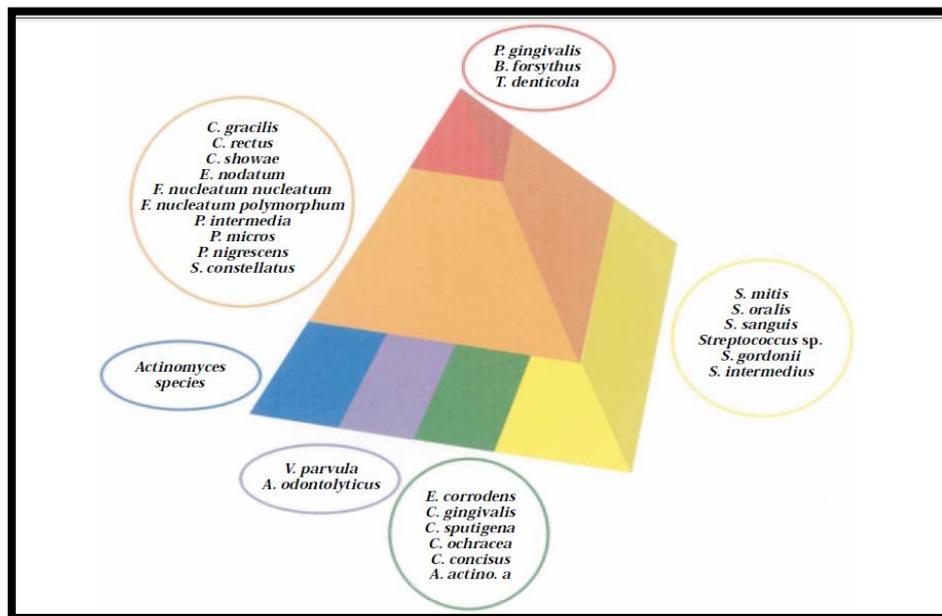
## 2.6. La Enfermedad Periodontal Crónica

Lindhe (37) señala que la periodontitis crónica comienza con una gingivitis inducida por placa, lesión reversible, que si no se trata puede evolucionar a ésta afección; produciendo la pérdida de inserción y destrucción del hueso alveolar.

Clínicamente se caracteriza por la presencia de bolsas periodontales, pérdida de inserción al sondeo, destrucción de hueso alveolar y movilidad dentaria, se ha propuesto que el patrón de afección por la enfermedad es bilateral simétrica, con una mayor frecuencia de destrucción en los sitios interdenciales. (3)

Bacterias como: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola* y *Campylobacter rectus*, constituyen patógenos importantes de ésta enfermedad; siendo el grupo agresivo de la lesión. Sin embargo; la bacteria predominante de ésta patología es la *Porphyromonas gingivalis* (45)

Es así como Donald Ramos y cols (9), señalan que ésta bacteria una vez que llega a su hábitat, se condiciona al medio para vivir y debido a su diversidad de factores de virulencia, rompe la homeostasis en el surco, ocasionando una destrucción continua y agresiva de los tejidos de sostén del diente, llegando a degradar hueso y tejidos blandos.



**Figura 3.** Diagrama de la asociación entre especies subgingivales Fuente: Socransky S, Haffajee AD y cols. Periodontal microbial ecology. Periodontology, 2000 (43)

Los datos procedente de 13.321 muestras de placas subgingivales obtenidas de la cara mesial de cada diente en 185 adultos. Cada muestra se analizó de forma individual con respecto a la presencia de 40 especies subgingivales utilizando análisis tablero de ajedrez por hibridación DNA-DNA. Las asociaciones entre especies se registraron a través de técnicas de análisis de grupo y de ordenación comunitaria. La base de la pirámide comprende las especies que se creen que colonizan la superficie del diente y que proliferan en una fase temprana. El complejo naranja se vuelve numéricamente predominante más tarde y se cree que sirve de puente entre los colonizadores tempranos y las especies del complejo rojo donde en mayor porcentaje se encuentra la *Porphyromona Gingivalis*, que predominan numéricamente en las fases tardías del desarrollo de la placa. (43)

### **2.6.1. Características Generales de la Periodontitis Crónica**

Las características generales de la Periodontitis Crónica incluyen síntomas como:

- Mayor prevalencia de la periodontitis crónica en adultos.
- La gran pérdida de los tejidos periodontales tiene relación con la higiene oral y los niveles de placa; donde intervienen factores locales como fumar, estrés y factores de riesgo sistémicos.
- La composición del biofilm cambia entre individuos y sitios, así el biofilm subgingival acoge una gran diversidad de especies bacterianas.
- Los estudios epidemiológicos demuestran que el progreso de la enfermedad es generalmente lento y continuo y la severidad se relaciona directamente con la presencia de placa bacteriana y cálculo dental. (8)

### **2.7. Porphyromona Gingivalis**

Días Zuñiga y cols (46), señalan a la *Porphyromona Gingivalis* como una bacteria patógena de alta prevalencia, en donde la evidencia científica actual ha asociado a ésta bacteria con la destrucción activa del aparato de soporte periodontal, además de ser identificado como factor de riesgo para producir graves patologías como infecciones extraorales, incluyendo mediastinales, de planos faciales, cerebro y abscesos pulmonares, enfermedades cardíacas, parto prematuro y bajo peso al nacer.

Ramos, Moromi, & Martínez (9), señalan entonces que la *Porphyromonas gingivalis* es un patógeno que coloniza sitios donde la tensión de oxígeno es baja, pero en los cuales hay sustratos abundantes en nitrógeno, convirtiéndose así el ecosistema subgingival debido a su potencial redox es bajo en un ambiente idóneo para la colonización de esta especie.

### **2.7.1. Taxonomía**

Se trata de una bacteria gram - negativo, anaerobio. (3) El género perteneciente al grupo de los “Bacteriodes negro – pigmentados”; lo agrupó en su primera clasificación, como una asociación de bacterias heterogéneas, con características de ser anaerobios obligados, gram negativo, con la utilización de nuevas técnicas de identificación mediante biología molecular, como el ADN–ADN hibridación, además de estudios en sus características bioquímicas, se pudo reconocer un grupo homogéneo de especies a partir de los bacteroides, denominados ahora *Porphyromonas*, que en sus inicios estuvo formando por 3 especies, *P. gingivalis*, *P. ascharolyticus* y *P. endodontales*; identificándose ahora alrededor de doce especies. Estas especies presentaban la característica de ser no fermentadores, y utilizar como sustrato el nitrógeno. (9)

### **2.7.2. Estructura y morfología**

*Porphyromona gingivalis* es un bacilo corto o cocobacilo anaerobio estricto ,que mide de 0.5 - 0.8 um x 1 - 3. Su pared celular muestra en su membrana externa las endotoxinas, son capsulados, no esporulados, sin flagelos y gran cantidad de fimbrias de varios tipos. A nivel superficial presenta vesículas que engloban una diversidad de enzimas que juegan un rol importante en su virulencia; segrega también múltiples enzimas con capacidad de degradar compuestos proteicos. (46)

### **2.7.3. Factores de virulencia**

La virulencia se define como la capacidad de un microorganismo para provocar una enfermedad o interferir con los procesos metabólicos o fisiológicos del hospedero. Un microorganismo virulento se caracteriza por expresar y producir metabolitos, toxinas,

enzimas y componentes de la superficie o pared celular que sirvan evadir las barreras defensivas e invadir y sobrevivir en los tejidos y células del hospedero. (46)

**2.7.3.1. Cápsula:** Formada por polisacáridos, existiendo 6 serotipos capsulares de K1 – K6. Su principal actividad es apartarse del sistema inmunológico, evitando la fagocitosis, opsonización y accionar del complemento. (9)

**2.7.3.2. Endotoxina (LPS):** contiene 3 componentes: polisacáridos (exterior), oligosacáridos (centro) y lípido A (interior), siendo esta última la porción inmunogénica más activa. Ésta actúa en la interrupción de la homeostasis inmunológica del huésped, induciendo de ésta manera a la inflamación gingival, destrucción del tejido conectivo y la reabsorción del hueso alveolar por participación de osteoclastos y provocando también la liberación de prostaglandinas. (9)

**2.7.3.3. Vesículas de membrana externa:** Son bolsas cerradas ubicadas en la parte más externa de la bacteria en su interior existen abundantes enzimas como; fosfolípasa C, proteasas, fosfatasa alcalina, hemolisinas, lipopolisacáridos. Estas son liberadas, provocando daño a las células periodontales y neutrófilos. (46)

**2.7.3.4. Hemaglutininas:** Son proteínas que inducen a la colonización; debido a la intervención de la unión bacteriana a receptores oligosacáridos en células humanas.

**2.7.3.5. Fimbrias:** La fimbria es una estructura filamentosa localizada en la superficie de *P. gingivalis*. Se compone de una subunidad proteica llamada fimbrilina, codificada por el gen *fimA*, diferenciándose 6 genotipos distintos, denominados I, Ib, II, III, IV y V. Se ha podido detectar que en personas con periodontitis crónica, los genotipos de *P. gingivalis* más frecuentes son el tipo II y IV, pues en efecto, se ha comprobado que el genotipo *fimA* II es capaz de inhibir a los receptores que ocasionan la fagocitosis en macrófagos; mientras que en personas sanos el genotipo que prevalece es el tipo I, lo que conllevaría a una especificidad genotípica que relaciona al gen *fimA* entre salud y enfermedad periodontal. (46)

**2.7.3.6. Proteínas Cisteinproteasas:** El 85 % de la actividad proteolítica está generada por éste factor de virulencia. Las proteínas cisteinproteasas brindan nutrientes para el desarrollo

bacteriano, provocando destrucción colateral al huésped, a través de la degradación de varios tipos de colágeno. Estas proteínas se denominan gingipainas, que resultan de tres genes *RgpA*, *RgpB* y *Kgp* los cuales son los responsables de varias acciones como: inactivar citoquinas y sus receptores, estimular la agregación plaquetaria, debilitar la actividad antibacteriana de los neutrófilos mediante la inhibición del receptor de LPS, incrementar la permeabilidad vascular y la apoptosis de los queratinocitos gingivales. (9)

**2.7.3.7. Inductor de metaloproteinasas de la matriz:** A pesar de no ser un producto propio de la bacteria, ésta impulsa a que lo generen fibroblastos, leucocitos y macrófagos; provocando la destrucción de la mayor parte de moléculas de la matriz; que incluye al colágeno, fibronectina y la laminina.

Entonces se puede decir que los factores de virulencia al asociarse debido a sus características; le otorga al microorganismo como: factores de adhesión, multiplicación, invasión y evasión de las defensas del huésped convirtiéndose crónico el proceso de destrucción del periodonto.

## **2.8. Gluconato de Clorhexidina**

En la década de los 40 la clorhexidina fue fabricada por Imperial Chemical Industries en Inglaterra; científicos que fueron capaces de desarrollar un grupo de compuestos denominados polibiguanidas demostrando un amplio espectro antibacteriano.

Salió al mercado en 1954 como antiséptico para las heridas de la piel, luego comenzó a utilizarse en medicina y cirugía tanto para el paciente y el cirujano. En odontología para desinfección de la boca y en endodoncia; sin embargo en el año 1970 el estudio definitivo que la introdujo en el mundo de la Periodoncia fue el realizado por Løe y Schiott en donde se evidenció que un enjuague de 60 segundos dos veces al día con una solución de clorhexidina en ausencia de cepillado normal, inhibía la formación de placa y el desarrollo de gingivitis. (47)

Se considera que el control químico de la placa bacteriana es una definición que se sostiene con el fin de sobrepasar las deficiencias en la limpieza mecánica. Un antiséptico es un agente

químico antimicrobiano que posee efectividad y eficacia; siendo idóneo en la destrucción o inhibición de microorganismos. (48)

Negroni Martha (6) la define como una bisbiguadina catiónica que posee gran actividad antimicrobiana; que constituye uno de los desinfectantes mejor conocidos y de uso más extendido. También señala que de los numerosos ensayos clínicos la clorhexidina representa beneficios clínicos y microbiológicos.

### **2.8.1. Espectro de acción.**

Clorhexidina tiene un extenso espectro de actividad antimicrobiana. Es activa frente a un amplio rango de organismos Gram + y Gram- así como sobre hongos. (47)

### **2.8.2. Mecanismo de acción**

Se junta fuertemente a la membrana celular bacteriana, a bajas concentraciones ocasiona un incremento de la permeabilidad con filtración de los componentes intracelulares (efecto bacteriostático). En concentraciones más altas produce la precipitación del citoplasma bacteriano y muerte celular (efecto bactericida) (47)

En la cavidad oral se absorbe velozmente a las superficies de contacto, incluidos los dientes con película adquirida, proteínas salivales y a la hidroxiapatita, gracias a la interacción reversible de la molécula de clorhexidina con grupos fosfato, sulfato y carboxilo de los tejidos blandos y duros, impidiendo de ésta manera la asociación, agregación y coagregación que determina el biofilm. (6)

### **2.8.3. Indicaciones y usos**

La clorhexidina está recomendada como coadyuvante en el tratamiento de la gingivitis, enfermedades periodontales necrosantes, personas que no pueden lograr una higiene oral adecuada como para aquellos que usan aparatología ortodóntica; también para las cirugías y en casos de irrigación para endodoncia. (6)

Según Altannir y colaboradores en 1994 la clorhexidina es de uso corriente en más de noventa países. Se presenta en distintas presentaciones para su aplicación clínica: pastas o geles, barnices dentífricos y enjuagues. (26)

Lindhe señala que es el antiséptico más utilizado en casos de periodontitis, debido a su sustantividad por más de 12 horas y a sus propiedades. (37)

#### **2.8.4.Toxicidad**

En la revisión ampliamente documentada en la literatura y estudiada desde varias perspectivas se puede verificar la seguridad que posee la clorhexidina en cuanto a su baja toxicidad. (Clark 1991, Hennessey 1973, Greenstein 1982, Schiott 1970, Fardal 1986 y Løe 1976). (47)

#### **2.8.5. Efectos colaterales**

Negróni nos menciona ciertos efectos tras su uso prolongado de clorhexidina: (6)

- El efecto colateral más frecuente es la tinción pardo – amarillentas de dientes naturales, restauraciones, así como de resina y porcelanas, que parecen depender de la concentración del productos y de la susceptibilidad individual.
- Alteraciones transitorias del gusto
- Descamación de la mucosa bucal que desaparece al parar el tratamiento
- Incluso se ha evidenciado un aumento del cálculo supragingival, como composición distinta a la habitual; pero de eliminación menos difícil. (6)

## CAPÍTULO III

### 3. Metodología

#### 3.1. Diseño de la Investigación

- **Experimental:** Se manejaron los procedimientos en el Laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria de la Escuela Politécnica Nacional y en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador, y a través de un protocolo se determinó el efecto inhibitorio del extracto de manzanilla (*matricaria chamomilla*), extracto de llantén (*plantago major l.*) y la combinación del extracto de manzanilla y llantén comparado con la clorhexidina sobre cepa de *Porphyromona Gingivalis*.
- **In vitro:** Este modelo experimental se realizó en microorganismos con ambiente controlado y adecuado apartado de un organismo vivo.
- **Comparativo:** Se identificó de tres tipos de estudio (extractos): cuál poseía mayor efecto inhibitorio frente a cepa de *Porphyromonas gingivalis*.

#### 3.2. Población de estudio y muestra

##### 3.2.1. Unidad de investigación

- Cepa de *Porphyromona Gingivalis* ATCC33277 (American Type Culture Collection); el mismo que fue adquirido en el Centro Químico MEDIBAC (Anexo 1)

**3.2.2. Tamaño de muestra :** En este estudio de investigación la muestra fue no probabilística, o denominada también muestras por conveniencia, es decir, que los elementos se escogen de acuerdo a la opinión del investigador/a, aquellos que resultan más sencillos para su examinación.

El presente estudio se elaboró con una población establecida por parte del investigador, tomando como base las muestras de experimentos realizadas anteriormente; sobrepasando el número de dichas muestras.

En artículos científicos en los que se utiliza este tipo de experimento, realizado con medios de cultivo para identificar si existe o no efecto inhibitorio sobre *Porphyromona Gingivalis* se trabajó con 8 o 10 muestras para cada grupo. Por lo que, en este estudio la muestra establecida fue de 30; que por ayuda didáctica se los clasificaron en tres grupos para sus posteriores análisis.

**Tabla 3: Grupos de estudios**

GRUPOS	CANTIDAD	TIPO DE EXTRACTOS
A	30 cultivos bacterianos	Colocación de discos blancos estériles embebido de Extracto de manzanilla
B	30 cultivos bacterianos	Colocación de discos blancos estériles embebido de Extracto de llantén
C	30 cultivos bacterianos	Colocación de discos blancos estériles embebido de Extracto de la combinación de manzanilla y llantén

**Fuente:** Autora

### 3.3. Criterios de inclusión y exclusión

#### 3.3.1. Criterios de Inclusión:

- Cepa de *Porphyromonas gingivalis* que no ha sido expuesta a alguna solución o contaminación.

#### 3.3.2. Criterios de Exclusión:

- Cepa de *Porphyromona gingivalis* que ha sido expuesta a alguna solución, o contaminación.

### 3.4. Conceptualización de variables

#### 3.4.1. Variables Independientes

3.4.1.1. **Extracto de Manzanilla:** Es una sustancia obtenida de una mezcla compleja biosintetizada, extraídas de una parte de una materia prima; que poseen propiedades medicinales, en este caso de la planta de manzanilla; a menudo usando un solvente como etanol o agua. (49)

3.4.1.2. **Extracto de llantén:** Es una sustancia obtenida de una mezcla compleja biosintetizada, extraídas de una parte de una materia prima; que poseen propiedades medicinales; en este caso de la planta de llantén; a menudo usando un solvente como etanol o agua. (49)

3.4.1.3. **Extracto de la combinación de manzanilla y llantén:** Es una sustancia obtenida de una mezcla compleja, extraídas de una parte de una materia prima; en este caso de la planta de manzanilla y llantén par ser utilizadas en su combinación (49)

#### 3.4.2. Variables Dependientes

3.4.2.1. **Efecto Inhibitorio:** Es la capacidad que tienen algunas sustancias para inhibir el crecimiento o limitar el desarrollo de una bacteria. (27)

### 3.4.3. Operacionalización de las variables

VARIABLE	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO	CLASIFICACIÓN	INDICADOR CATEGÓRICO	ESCALAS DE MEDICIÓN
Extracto	Es una sustancia obtenida de una mezcla compleja biosintetizada, extraídas de una parte de una materia prima que poseen propiedades medicinales.	Independiente	Cualitativa Nominal	Manzanilla Llantén Combinación de manzanilla y llantén	1 2 3
Efecto Inhibitorio	Capacidad que tienen algunas sustancias para inhibir el crecimiento o limitar el desarrollo de una bacteria ; en esta ocasión de <i>Porphyromonas Gingivalis</i> .	Dependiente	Cuantitativa Continua	I. Nula (-) si fue inferior o igual a 8 mm  II. Sensible (Sensible =+) de 9 a 14 mm  III. Muy sensible (muy sensible =++) de 15 a 19 mm  IV. Sumamente sensible (S.S.=+++ ) si fue igual ó superior a 20 mm .	Distancia del halo medida en milímetros
Sustancias de Control	Sustancias comprobadas bajo método científico su acción de inhibir o no el crecimiento de <i>Porphyromonas gingivalis</i>	Independiente	Cuantitativa	1.- Control negativo: Agua destilada  2.- Control positivo: Clorhexidina	0  1

### **3.5. Materiales y métodos**

#### **3.5.1. Infraestructura**

El presente estudio se realizó en:

- Laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria de la Escuela Politécnica Nacional. (Anexo 2)
- Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador. (Anexo 3)

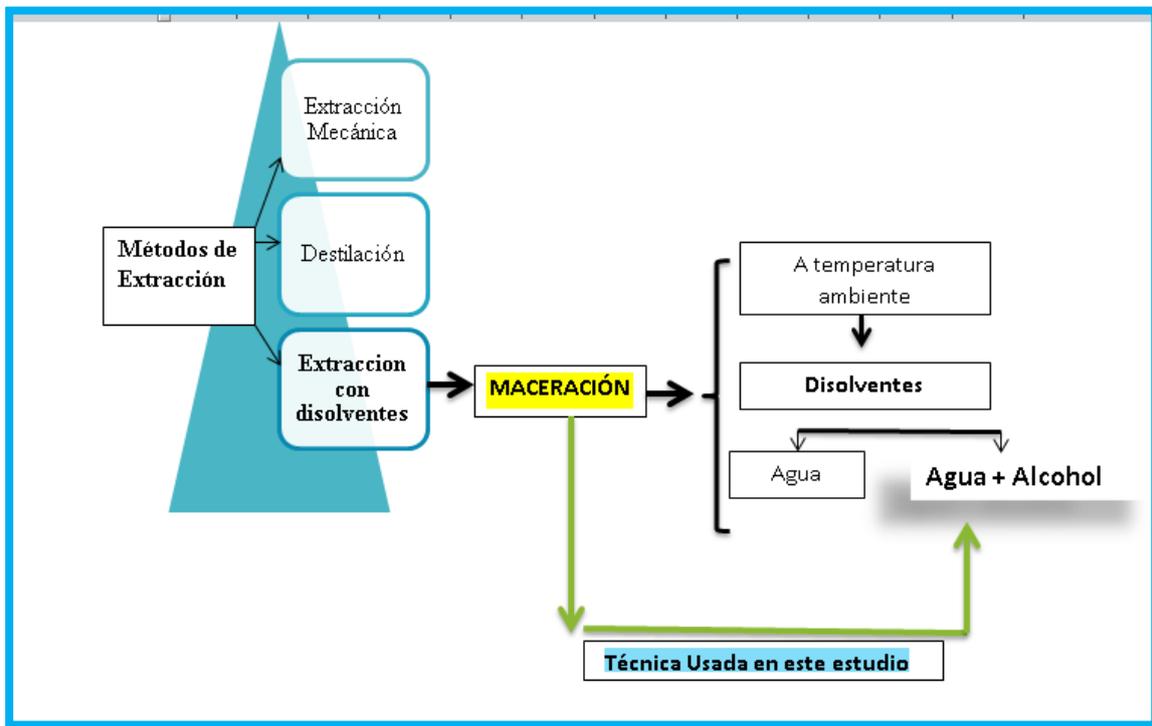
#### **3.5.2. Técnicas y procedimientos**

##### **A. Obtención del extracto de manzanilla, llantén y de la combinación de manzanilla y llantén**

Un extracto es la separación de las sustancias biológicamente activas de una planta, basándose siempre en un procedimiento adecuado, donde siempre se obtiene por lo menos dos componentes: la solución extraída ( el extracto) y los residuos ( el bagazo). (50)

La estandarización del proceso, esto garantizará la calidad, rendimiento, seguridad y eficacia del producto medicinal. (51)

A partir de los métodos de extracción se ha logrado obtener las sustancias activas en forma pura para la elaboración más sofisticada y adecuada, de acuerdo al lugar de acción que se recomiende. (51)



**Figura 4.** Métodos de extracción (49)

**Elaborado por:** Autora

**Materiales:**

- Balanza analítica
- 2 Envases ámbar de 1000 mL
- Estufa
- Embudo Bushner con filtro estéril
- Probetas
- Equipo de evaporización- Rotavapor

**Reactivos: Alcohol etílico al 70 %.**

**Recolección del material:** Al medio día, en la Provincia de Pichicha - Parroquia de Nayón, se recolectaron muestras representativas de manzanilla y llantén respectivamente, plantas frescas y con la misma maduración).

Se obtuvieron 2 kg de manzanilla (*matricaria chamomilla*), y 2 kg de llantén (*plantago major l.*) .



Figura 5. A) Mazanilla (*matricaria chamomilla*)

Fuente. Autora



Figura 6. B) Llantén *plantago major l.*)

Fuente. Autora

#### Pretratamiento de la materia prima:

- Limpieza y preparación: se separó aquel material ajeno que no pertenecía a la especie y se lavó la muestra.
- Separado: Se hizo una separación manual de las raíces de cada especie, dejando las partes principales.

## **Extracción de manzanilla (*matricaria chamomilla*), llantén *plantágo major l.*) y la mezcla de manzanilla y llantén**

Una vez que se encontraba la materia prima (manzanilla y llantén) completamente lavado y limpio; se procedió a colocar 500 g de manzanilla y 500 g de llantén (peso húmedo) en una estufa a 60 °C durante un día, como se observa en la figura 7 y 8.



**Figura 7.** Manzanilla (*matricaria chamomilla*), y llantén dentro de la estufa

**Fuente.** Autora

A las 24 horas, se retiró la muestra tanto de manzanilla y llantén de la estufa; y se determinó su peso correspondiente (peso en seco).

- **Manzanilla** (*matricaria chamomilla*) : 82.9 g
- **Llantén** *plantágo major l.*) : 89, 4 g

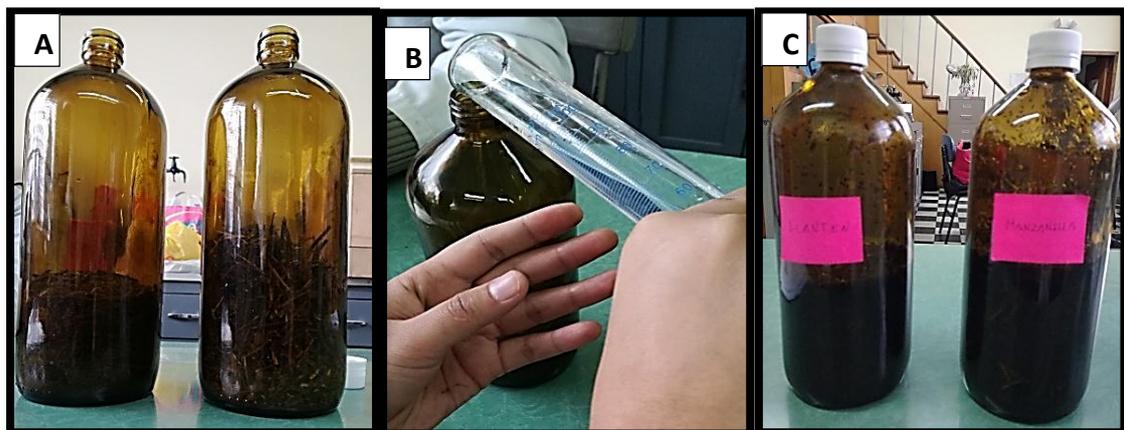


**Figura 8.** Manzanilla y llantén secos

**Fuente.** Autora

Seguidamente se pulverizó y se colocó individualmente las muestras en un envase ámbar de capacidad de 1000 mL; en el mismo se colocó alcohol etílico al 70 % hasta que cubra la muestra; y se cerró herméticamente el envase para que se produzca desde ese momento el proceso de maceración, (técnica utilizada para la obtención de los extractos).

El mismo procedimiento explicado anteriormente se lo elaboró exactamente en la muestra de llantén.



**Figura 9.** A) Materia prima dentro de los envases ámbar B) colocación de alcohol etílico al 70% C) envases ámbar de manzanilla y llantén con alcohol

**Fuente.** Autora

El proceso de maceración se dió durante 7 días con agitación periódica. Luego se abrieron los envases que contenían los macerados, y se procedió a retirar todo el contenido acuoso separándolo de la materia prima respectivamente, mediante un sistema de filtración en embudo Bushner con filtro estéril adosado a un kitasato, con la finalidad que no haya ninguna materia sólida, como se observa en la Figura 10.

Se obtuvieron 329 mL de solución luego de la maceración de la muestra de manzanilla y 234 mL de la muestra de llantén. Se determinó la cantidad de alcohol a retirar del extracto mediante el siguiente balance de masa.

**Tabla 4. Cantidad de alcohol en la muestra de manzanilla (*matricaria chamomilla*).**

<b>Cantidad de Alcohol en la muestra Manzanilla = % Alcohol * Volumen de muestra</b>	
Cantidad de Alcohol en la muestra Manzanilla =	0.70 % * 329 mL
Cantidad de Alcohol en la muestra Manzanilla =	230.3 mL de alcohol en la muestra

**Fuente.** Autora

**Tabla 5. Cantidad de alcohol en la muestra de llantén**

<b>Cantidad de Alcohol en la muestra Llantén = % Alcohol * Volumen de muestra</b>	
Cantidad de Alcohol en la muestra Llantén =	0.70 % * 234 mL
Cantidad de Alcohol en la muestra Llantén =	163.8 mL de alcohol en la muestra

**Fuente:** Autora



**Figura 10:** Sistema de filtración de las muestras

**Fuente:** Autora

Para finalizar con la obtención de los extractos, se colocó el contenido completo recogido de la maceración de manzanilla y llantén individualmente en el rotavapor, para que se volatilice todo el alcohol que se encontraba en la muestra, con el fin de obtener en la culminación del proceso únicamente el extracto puro; técnica que se comprueba nuevamente mediante el balance de masa; ( antes y después)



**Figura 11.** Rotavapor- Evaporación del alcohol de las muestras

**Fuente:** Autora

Con el propósito de no perder componentes activos termolábiles se disminuyó la temperatura de ebullición en el equipo de rotavapor mediante una bomba de vacío, como se observa en la Figura 11.

Los ensayos se realizaron con el extracto de manzanilla y llantén de manera individual, y en un tercer ensayo se lo hizo con la mezcla por igual de los extractos.



**Figura 12.** Extracto de manzanilla, llantén y combinación de extracto de manzanilla y llantén

**Fuente.** Autora

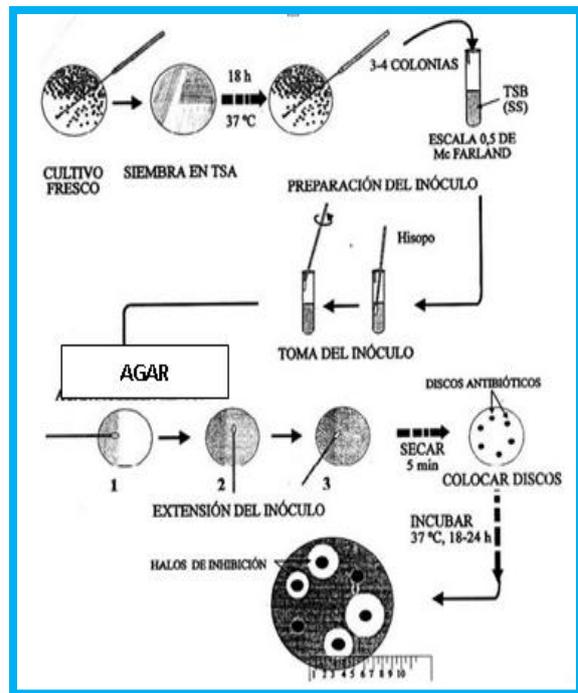
### **B. Determinación del efecto inhibitorio in vitro**

El análisis de la sensibilidad de los microorganismos a los antimicrobianos es una de las funciones más importantes de los laboratorios de microbiología clínica. Su elaboración se desarrolla mediante las pruebas de sensibilidad o antibiograma, cuyo principal objetivo es estudiar en el laboratorio la respuesta de un microorganismo a uno o varios antimicrobianos, traduciendo, en una primera aproximación, su resultado como factor predictivo de la eficacia clínica. (52)

**Fundamento:** Método de difusión de disco - Técnica Kirby-Bauer

El método de difusión de disco, basado originalmente en el descrito por Kirby-Bauer, es uno de los métodos que el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) recomienda para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos, pues han desarrollado estándares para su interpretación y está apoyado por datos clínicos y de laboratorio. (53)

Consiste en depositar en la superficie de una placa de agar previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel de filtro impregnados con los diferentes antimicrobianos. Tan pronto el disco impregnado se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antimicrobiano difunde por el agar, formándose un gradiente de concentración. Transcurridas 18 a 24 horas de incubación, los discos pueden o no aparecer rodeados por una zona de inhibición de crecimiento bacteriano. (52)



**Figura 13.** Fundamento Difusión en disco- Kirby Bauer

**Fuente:** Metodología básica para el estudio de sensibilidad a los antimicrobianos

**Materiales:**

- Cámara de seguridad biológica
- Jarra de anaerobiosis (anaerojar 2.5lts-Oxoid)
- Sobres generadores de anaerobiosis (anaerogen 2.5 lts)
- 30 medios de cultivo de agar sangre

- Pinzas
- Mechero
- Hisopos estériles
- Cajas Petri estériles de vidrio
- Estufa
- Incubadora
- Micropipeta

- Material biológico:

Cepa de *Porphyromonas gingivalis* ATCC33277; material biológico certificado.

- Extracto de manzanilla (*matricaria chamomilla*),
- Extracto de llantén (*plantago major l.*)
- Combinación del extracto de manzanilla y llantén
- Químicos para pruebas blanco positivas y negativas:

Clorhexidina al 0,12%

Agua destilada

Materiales de bioseguridad:

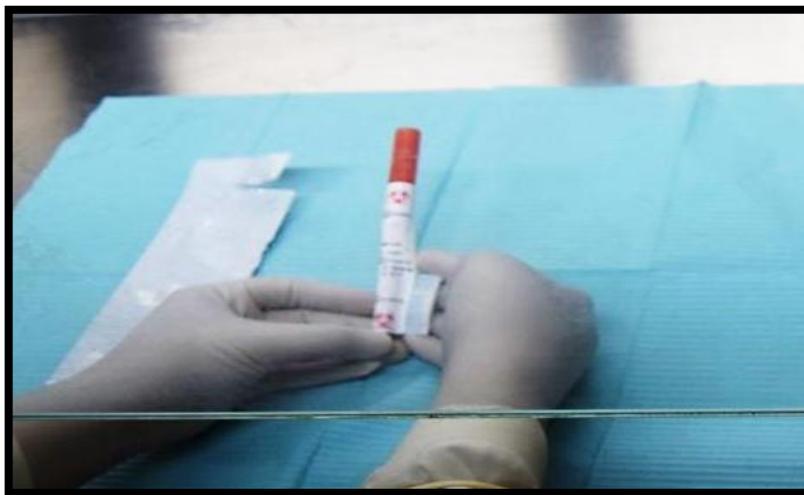
- Mandil
- Gorro
- Gafas
- Mascarilla
- Guantes

### **Procedimiento:**

#### **Activación de la cepa bacteriana:**

- Se elaboró la activación como lo indica la casa comercial: Anexo 4.

En un dispositivo llamado KWIK-STIK™, se encuentra la cepa bacteriana Porphyromona gingivalis, la misma que cuenta con una sola cepa de microorganismo en un sedimento liofilizado, un depósito de líquido hidratante, y un hisopo de inoculación.



**Figura 14:** Cepa Porphyromona Gingivalis: bolsa abierta

**Fuente.** Autora

Se empezó el procedimiento dejando la bolsa sellada que se equilibre a temperatura ambiente.

Para mayor seguridad el protocolo siguiente, se lo realizó dentro de la cámara de bioseguridad; donde se procedió a romper la bolsa por donde indicaba la muesca y se retiró la unidad KWIK-STIK™, como se observa en la Figura 14.

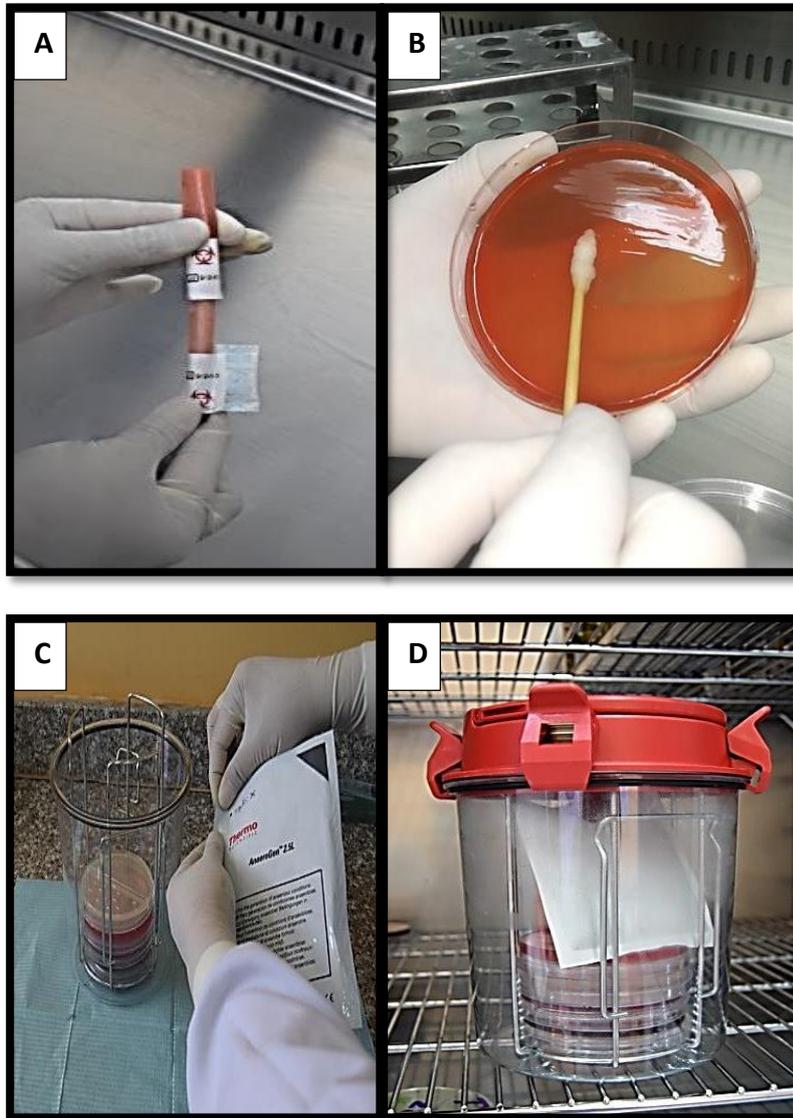
En la parte superior de la unidad KWIK-STIK™ se encuentra la ampolla que contiene el líquido hidratante, la misma que sosteniendo verticalmente se presionó para que se produzca la hidratación completa de la cepa, con el fin de facilitar que pase el fluido al fondo de la unidad y tener la cepa completamente diluida y homogénea; no se abrió el dispositivo hasta que se complete este proceso.

Una vez realizado esto, inmediatamente abrimos el tubo y retiramos el hisopo con el material hidratado para transferir al medio de cultivo Se utilizó el medio de cultivo agar sangre base + sangre humana O positivo).

A éste cultivo primario se inoculó suavemente con el hisopo, haciendo un estriado en toda la extensión de la caja petri para facilitar el aislamiento y crecimiento de las colonias en toda la caja.

Seguidamente en condiciones estériles, se procedió a realizar la incubación de la cepa, en una jarra de anaerobiosis que se mantuvo en la incubadora a 35 °C por 7 días.

Este procedimiento se observa en la Fig. 15.



**Figura 15.** A) Presión de la parte superior de la cepa B) Estriado en la caja Peri con hisopo, C) Colocación en la jarra de anaerobiosis, D) Jarra de anaerobiosis en incubadora a 35°C

**Fuente:** Autora.

### **Crecimiento y estandarización de la cepa bacteriana**

Transcurrido los 7 días, observamos la presencia de la bacteria en el medio de cultivo, hallándose varias colonias de *Porphyromona gingivalis*.

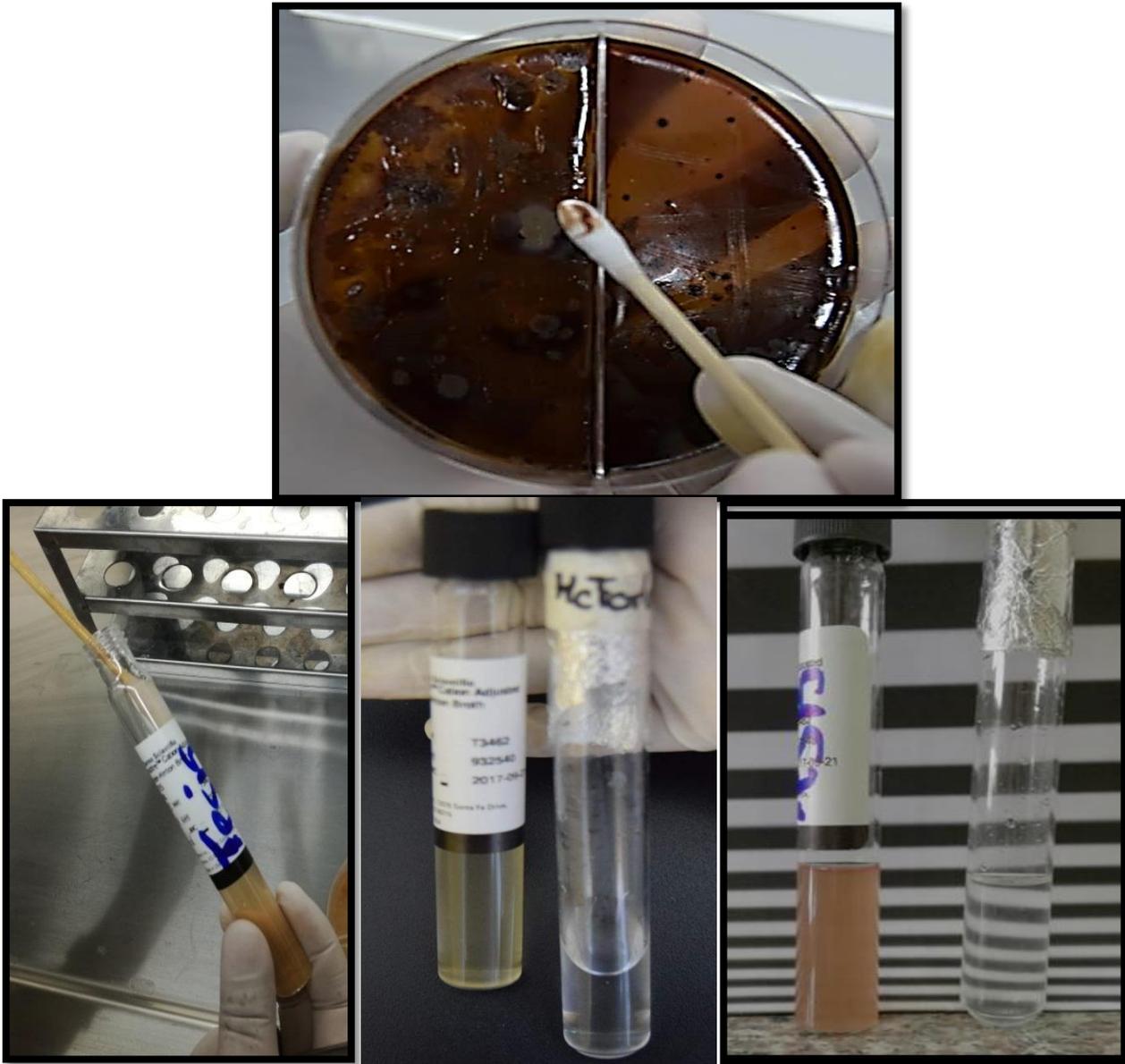


**Figura 16:** Crecimiento bacteriano *Porphyromona Gingivalis* Agar Sangre

**Fuente:** Autora

Para su estandarización con la ayuda de un hisopo estéril, se cogió delicadamente por arriba colonias claramente identificadas y se transfirió hacia el medio de cultivo líquido Mueller Hinton; el mismo que se dejó en la incubadora a 35° por 12 horas para conseguir una turbidez que supere o llegue a la solución estándar de 0,5 McFarland, utilizada en pruebas de sensibilidad.

Cumplido éste tiempo en un fondo blanco con líneas negras horizontales, se comparó aquella turbidez que presentó el caldo con la estándar McFarland, verificando de ésta manera que si hubo una suspensión homogénea de la cepa bacteriana. Figura 17.



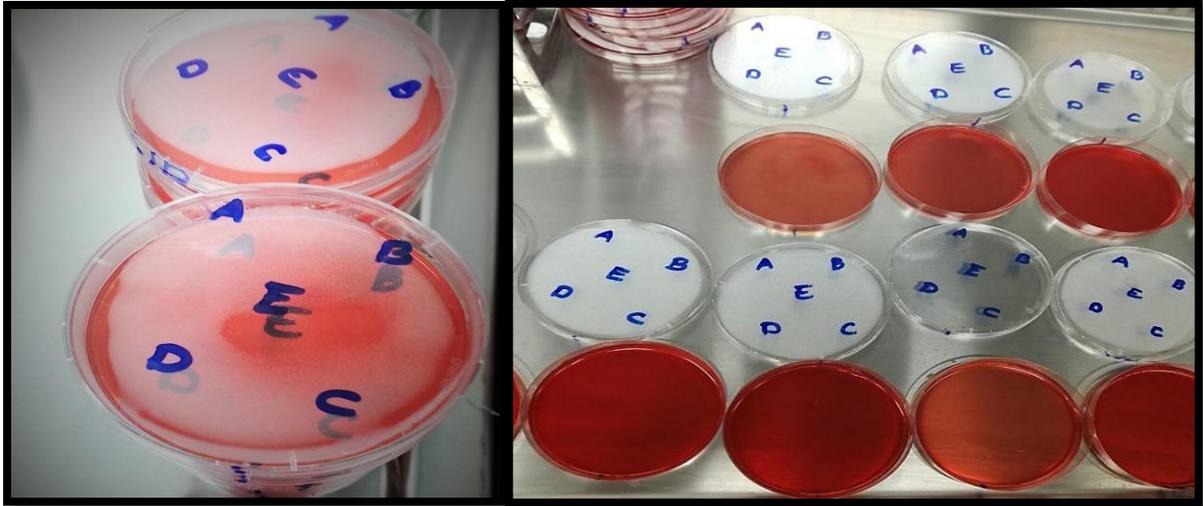
**Figura 17.** Estandarización de la cepa Bacteriana *Porphyromona Gingivalis*

**Fuente:** Autora

### **Resiembra del inóculo en las placas:**

Aquí se realizó la resiembra desde la suspensión (caldo Mueller Hinton) en los medios de cultivo (30 cajas petri con agar sangre base + sangre humana O positivo), previo a esto, se procedió a rotular cada caja Petri con el uso de letras para su identificación, en los sitios que posteriormente irían los discos embebidos; quedando de la siguiente manera:

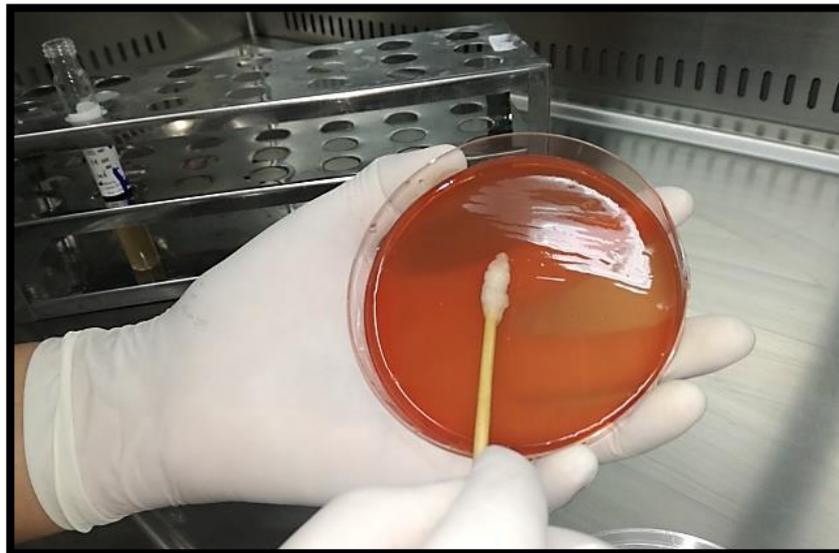
A: extracto de manzanilla; B: extracto de llantén; C: Extracto de la combinación de manzanilla y llantén; D: Agua destilada como control negativo y E: Clorhexidina como control positivo.



**Figura 18.** Rotulación de las 30 cajas Petri

**Fuente:** Autora

Se sumergió un hisopo estéril dentro del caldo, rotando por varias ocasiones; luego se procedió a pintar cada medio de cultivo en toda su superficie, vertical, horizontalmente y alrededor de cada caja Petri con el fin de obtener un crecimiento uniforme.



**Figura 19:** Resiembra del inóculo: *Porphyromona Gingivalis*

**Fuente:** Autora

### Preparación de los extractos y los discos de papel

Se utilizaron 150 discos de papel de 6mm de diámetro estériles, los mismos que se encontraban a una temperatura de 8°C y previo a su utilización se los mantuvo dos horas a temperatura ambiente.

Posteriormente, con la ayuda de una pinza estéril se embebió individualmente los discos de papel en 15ml de cada extracto y los grupos de control; 30 para cada uno.

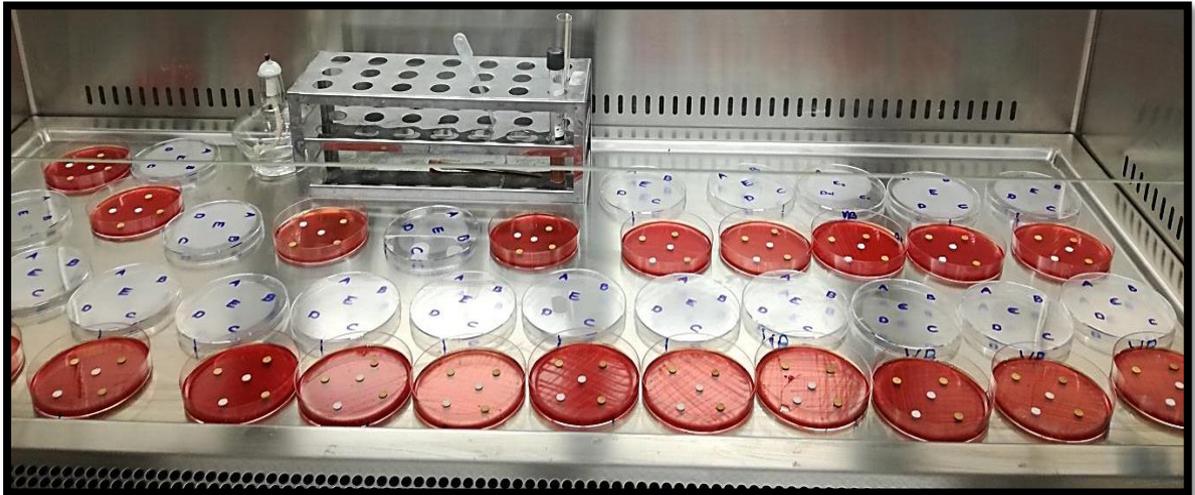


**Figura 20.** Preparación de cada extracto con los discos de papel embebidos

**Fuente:** Autora

### Colocación de discos de papel en las placas inoculadas:

Los discos de papel embebidos se colocaron en cada medio de cultivo de *Prophyromona gingivalis*, de acuerdo a la rotulación que pertenecía, a una distancia no menor de 24mm entre sí y a 2 cm del borde de la placa; éstos fueron presionados ligeramente para que se logre consolidar plenamente con el agar.



**Figura 21:** Placas con los 5 discos de papel respectivamente

**Fuente:** Autora

Déspués de 15 minutos se colocaron las 30 cajas Petri en jarras de anaerobiosis con su debido generador de anaerobiosis, para ser incubadas a 37°C, durante 48 horas.



**Figura 22.** Jarras de anaerobiosis con cultivos bacterianos *Porphyromona Gingivalis*

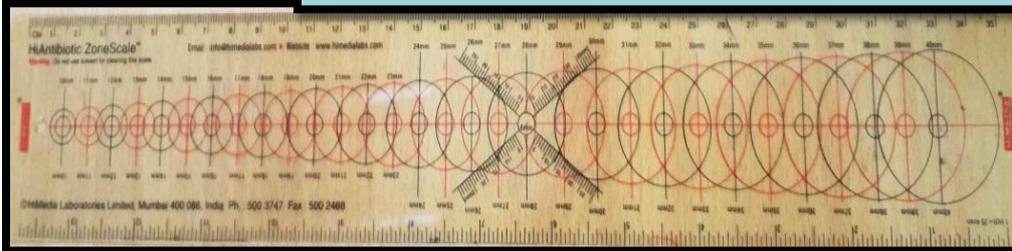
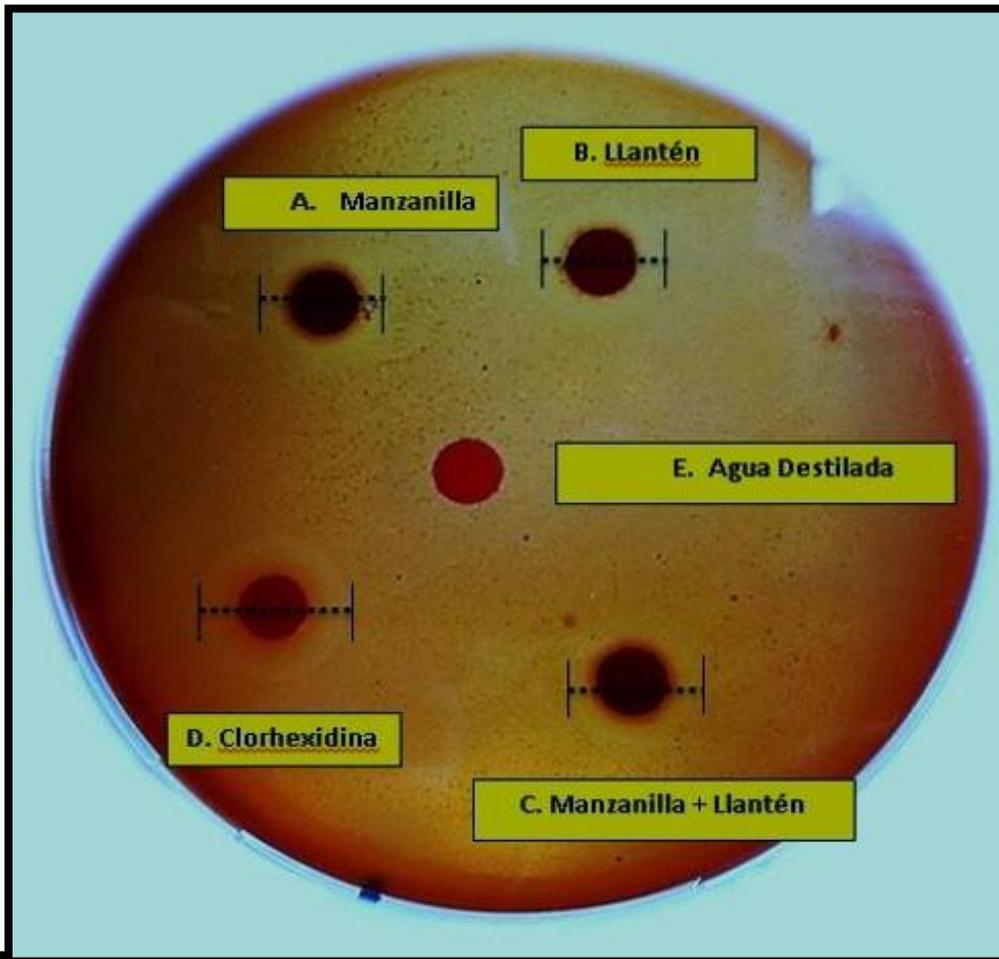
**Fuente.** Autora

## Lectura de los resultados

Al cabo de las 48 horas se observaron los resultados de cada uno de los cultivos de *Porphyromonas gingivalis* ATCC® 33277™. La determinación del efecto inhibitorio se realizó tanto cuantitativamente como cualitativamente, de manera cuantitativa se procedió a medir los halos de inhibición que éstos presentaban respectivamente alrededor del disco, utilizando una regla milimetrada, en este caso la denominada Hi Antibiotic Zone Scale, basándose en la técnica de Kirby Bauer; mediciones que fueron tomadas en un registro respectivamente.

En la medición de manera cualitativa nos basamos en las tablas de actividad inhibitoria, la cual establece el diámetro del halo de inhibición de crecimiento bacteriano y lo encasilla dentro de los parámetros determinados como las pautas de Duraffourd que nos indica:

- Para un diámetro inferior a 8mm, se le otorga la característica de Nula (-),
- Para un diámetro comprendido entre 9 y 14mm se lo define como sensible (+)
- Para un diámetro entre 15 y 19mm se lo encasilla como Muy sensible (++)
- Finalmente para un diámetro igual o superior a 20mm se lo determina como Sumamente sensible (+++)



**Figura 23.** Cultivo bacteriano *Porphyromona Gingivalis* con halos de inhibición – Regla milimetrada Hi Antibiotic Zone Scale

**Fuente:** Autora

### 3.6. Eliminación de desechos

El manejo de desechos se elaboró tal como lo establece “El reglamento de Manejo de Desechos Infecciosos para la red de servicios de Salud en el Ecuador”; establecido por el Ministerio de Salud Pública Del Ecuador. Anexo 5 y 6.

### **3.7.Aspectos Bioéticos**

- Este trabajo in - vitro se realizó en el Laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria de la Escuela Politécnica Nacional y Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador; con condiciones controladas, sujeto a normas bioéticas y de bioseguridad en el que no existió compromiso con seres vivos, únicamente con cepas biológicas, por lo que los aspectos éticos no se usaran en éste estudio. Se contó con los permisos respectivos.

#### **3.7.1. Bondad Ética**

En la presente investigación se midieron los halos de inhibición, demostrando la susceptibilidad de *Porphyromonas gingivalis* frente al extracto de manzanilla (*matricaria chamomilla*), al extracto de llantén (*plantago major l.*) y a la combinación del extracto de manzanilla y llantén, convirtiéndose de tal forma en una alternativa de terapia complementaria a los métodos mecánicos, con el objetivo de prevenir y curar la Enfermedad Periodontal.

#### **3.7.2. Confidencialidad**

Los resultados obtenidos en éste estudio pertenecerán al autor y a la Universidad Central Del Ecuador.

## CAPÍTULO IV

### 4. PROCESAMIENTO DE DATOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

#### 4.1. Resultados

Con el presente proyecto de investigación se buscó determinar el efecto inhibitorio de extracto de manzanilla, extracto de llantén y combinación de extracto de manzanilla y llantén. Anexo 7

Los resultados obtenidos en este estudio a través de la medición de los halos de inhibición de cada cultivo bacteriano de *Porphyromona gingivalis*, realizados en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología fueron registrados en un tabla de Microsoft Excel, los mismo que se detallan en la Tabla 6. Anexo 8

**Tabla 6. Halos de Inhibición**

N° Muestra	Manzanilla (A)	Llantén (B)	Combinación de Manzanilla y llantén (C)	Clorhexidina (D)	Agua Destilada (E)
1	11mm	12mm	18mm	19mm	0mm
2	10mm	11mm	15mm	17mm	0mm
3	12mm	13mm	16mm	18mm	0mm
4	12mm	14mm	16mm	17mm	0mm
5	10mm	15mm	19mm	16mm	0mm
6	9mm	12mm	16mm	17mm	0mm
7	10mm	12mm	15mm	17mm	0mm
8	9mm	14mm	18mm	18mm	0mm
9	11mm	13mm	16mm	18mm	0mm
10	11mm	14mm	17mm	18mm	0mm
11	10mm	12mm	16mm	19mm	0mm
12	10mm	12mm	16mm	18mm	0mm
13	11mm	11mm	16mm	17mm	0mm
14	8mm	13mm	15mm	18mm	0mm
15	10mm	12mm	16mm	17mm	0mm
16	12mm	13mm	17mm	18mm	0mm
17	11mm	12mm	18mm	17mm	0mm
18	10mm	14mm	17mm	17mm	0mm
19	9mm	15mm	18mm	17mm	0mm
20	11mm	12mm	18mm	18mm	0mm
21	9mm	10mm	15mm	17mm	0mm
22	9mm	12mm	16mm	19mm	0mm
23	10mm	10mm	17mm	18mm	0mm

24	9mm	12mm	16mm	18mm	0mm
25	10mm	13mm	15mm	17mm	0mm
26	12mm	14mm	16mm	18mm	0mm
27	9mm	11mm	16mm	17mm	0mm
28	10mm	13mm	17mm	18mm	0mm
29	11mm	12mm	16mm	18mm	0mm
30	10mm	14mm	17mm	17mm	0mm

**Tomado de:** Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología

**Elaborado por:** Autora.

#### 4.2. Análisis Estadístico

El análisis estadístico de este estudio se realizó con la ayuda del Programa Informático SPSS, en donde se estructuró una base de datos con los valores obtenidos.

##### - Pruebas de Normalidad

Primero se comprobó si las muestras provenían de una distribución normal, mediante las pruebas de Kolmogorov - Smirnov o con la prueba de Shapiro - Wilk (menor a 20 datos).

Ho: Las muestras provienen de poblaciones con distribución Normal

Ha: Las muestras NO provienen de poblaciones con distribución Normal

**Tabla 7. Pruebas de normalidad Kolmogorov-Smirnov**

Pruebas de normalidad						
	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	Gl	Sig.	Estadístico	Gl	Sig.
Manzanilla (A)	0,208	30	0,002	0,912	30	0,016
Llantén (B)	0,201	30	0,003	0,934	30	0,062
Combinación (C)	0,268	30	0,000	0,886	30	0,004
Clorhexidina (D)	0,263	30	0,000	0,836	30	0,000

##### Advertencias

Agua Destilada es constante.

**Elaborado por:** Estadístico y Autora

En la prueba de Normalidad de Kolmogorov-Smirnov, los valores del nivel de significación (Sig) son inferiores a 0,05 (95% de confiabilidad), por tanto se acepta  $H_0$ , esto es las muestras NO provienen de poblaciones con distribución Normal, entonces para la comparación de grupos se utiliza pruebas no paramétricas: Kruskal Wallis.

- **Estadísticos Descriptivos**

Técnica que obtiene, organiza, presenta y describe un conjunto de datos con el propósito de facilitar su uso; mostrando así, de cada grupo de estudio su mínimo, máximo y media.

**Tabla 8. Estadísticos descriptivos de las cinco variables**

ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS						
	N	Mínimo	Máximo	Media	Error estándar	Desviación estándar
Manzanilla	30	8	12	10,20	0,194	1,064
Llantén	30	10	15	12,57	0,238	1,305
Combinación	30	15	19	16,47	0,196	1,074
Clorhexidina	30	16	19	17,60	0,132	0,724
Agua Destilada	30	0	0	0,00	0,000	0,000
N válido (por lista)	30					

**Fuente:** Ing. Jaime Molina

N: número de datos

$$\text{Media: } \bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^N x_i}{N}$$

$$\text{Desviación estándar: } \bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (1)$$

$$\text{Error estándar: } s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}}$$



**Gráfico 1. Comparación de medias de los halos de inhibición**  
Fuente. Ing. Jaime Molina

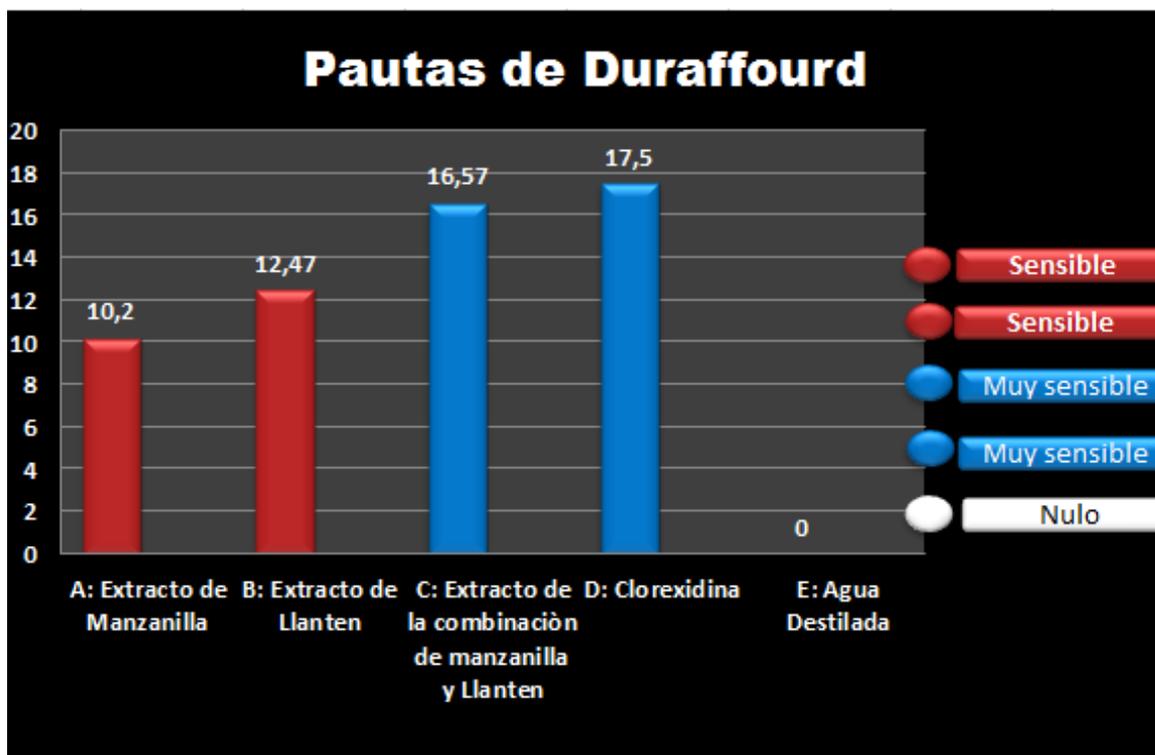
En función de los estadísticos descriptivos, en la gráfica se observa de manera comparativa que los valores del control positivo Clorhexidina al 0.12% son los más altos con una media de 17,60 mm; le sigue la media resultante de la combinación del extracto de manzanilla y llantén (C), con un valor de 16,47mm; a continuación el extracto de llantén (B) con una media de 12,57mm y al final el extracto de manzanilla (A) con una media de 10,20mm de halo inhibitorio.

Una vez obtenidos las medias de los grupos de estudio se las encasilló dentro de las Pautas de Duraffourd con el fin de obtener también el resultado cualitativo para la presente investigación.

**Tabla 9. Efectividad Inhibitoria según las Pautas de Duraffourd**

Sustancias	Nula (-)	Sensible (+)	Muy Sensible (++)	Sumamente sensible (+++)	Total General
Manzanilla	0 (100%)	30 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	30
Llantén	0 (100%)	30 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	30
Combinación de manzanilla y llantén	0 (100%)	0 (100%)	30 (100%)	0 (100%)	30
Clorhexidina 0.12%	0 (100%)	0 (100%)	30 (100%)	0 (100%)	30
Agua Destilada	30 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	30

**Elaborado por:** Autora



**Gráfico 2.** Efectividad Inhibitoria según las pautas de Duraffourd teniendo en cuenta el total de repeticiones y las sustancias empleadas

**Elaborado por.** Autora y Estadístico

Dentro de los resultados cualitativos se reflejó que los tres grupos de estudios presentaron un resultado positivo de efectividad inhibitoria frente a *Porphyromona gingivalis*; encasillándose en un rango de sensible (+) el extracto de manzanilla (*matricaria chamomilla*) y el extracto de llantén (plántago mayor I), seguido de la combinación del extracto de manzanilla y llantén que se encuentran en el rango de muy sensible (++); al igual que el grupo de control positivo Clohexidina al 0.12%.

Para verificar si estas diferencias son significativas se realizan las pruebas no paramétricas.

- **Pruebas no paramétricas: COMPARACIÓN ENTRE VARIAS SUSTANCIAS**

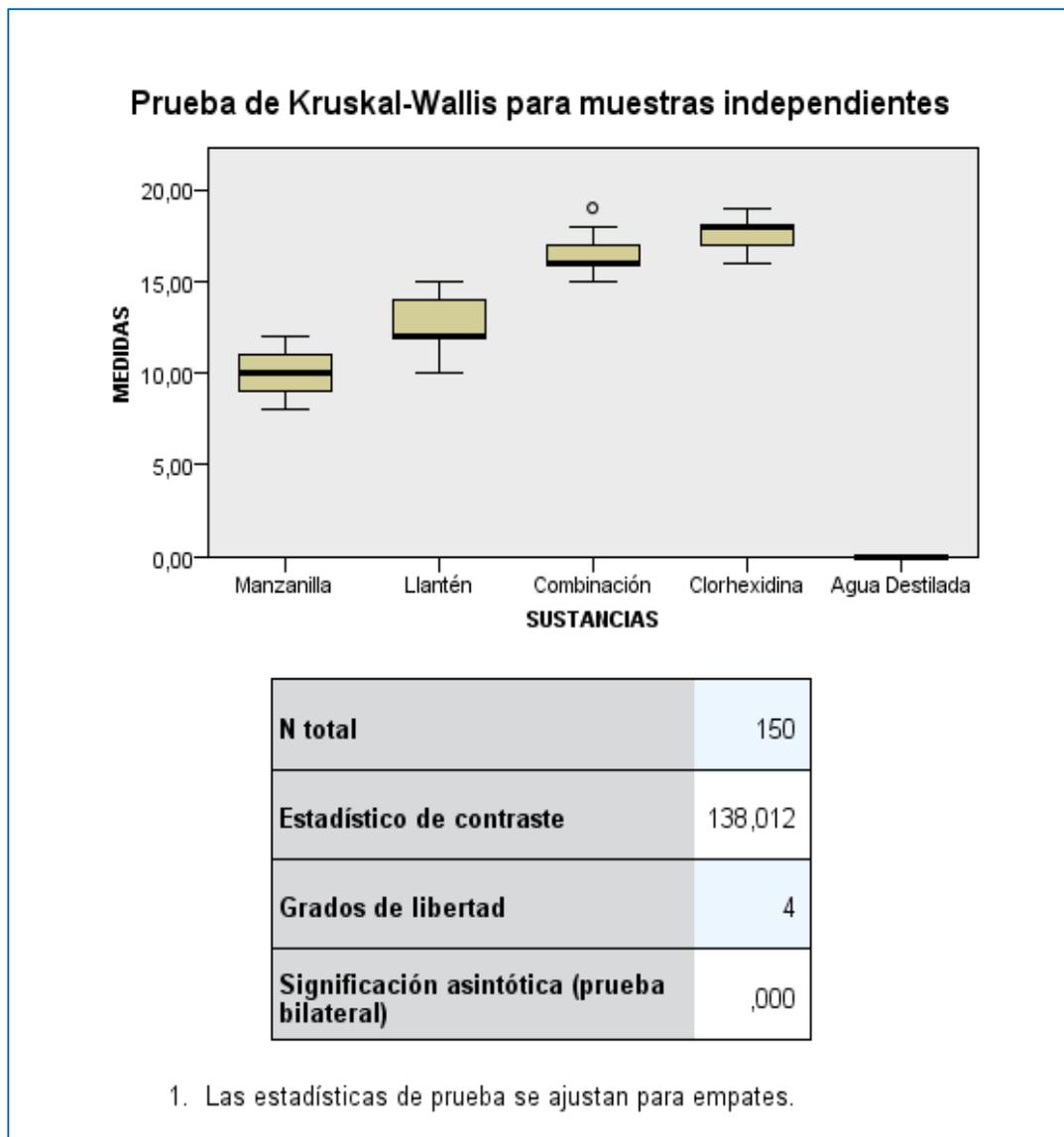
La utilización de estos métodos es recomendable cuando no se puede asumir que los datos se ajusten a una distribución conocida, y a su vez se pueden aplicar a datos de tipo cuantitativo y cualitativo respectivamente.

Cuando se compara tres o más muestras se utilizan por lo general la prueba de Kruskal Wallis.

**- PRUEBA DE KRUSKAL WALLIS**

Ho: (hipótesis nula) Las muestras proceden de poblaciones con la misma distribución de probabilidad (Medias similares)

Ha: (hipótesis alternativa) Existen diferencias respecto a la tendencia central de las poblaciones.



**Gráfico 3.** Pruebas de Kruskal Wallis

**Fuente.** Autora

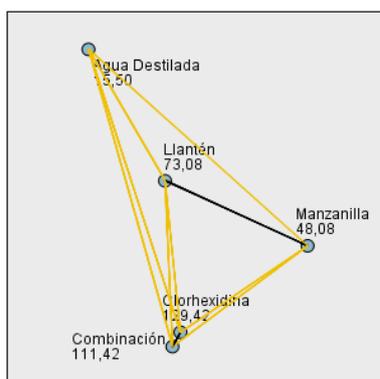
De la Prueba de Kruskal-Wallis, el valor del nivel de significación Sig. asintótica (prueba bilateral) = 0,000) es inferior a 0,05; luego se acepta la hipótesis alternativa  $H_a$ , señalando que existen diferencias respecto a la tendencia central de las poblaciones; es decir no todas las medias de las muestras son similares; pero las estadísticas de prueba se ajustan para empates.

**- Comparación por parejas de sustancias**

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

**Tabla 10. Combinación dos a dos de sustancias**

**Comparaciones por parejas de SUSTANCIAS**



Cada nodo muestra el rango promedio de muestra de SUSTANCIAS.

Muestra 1-Muestra 2	Estadístico de prueba	Estándar Error	Desv. Estadístico de prueba	Sig.	Sig. ajust.
Agua Destilada-Manzanilla	32,583	11,134	2,926	,003	,034
Agua Destilada-Llantén	57,583	11,134	5,172	,000	,000
Agua Destilada-Combinación	95,917	11,134	8,615	,000	,000
Agua Destilada-Clorhexidina	113,917	11,134	10,231	,000	,000
Manzanilla-Llantén	-25,000	11,134	-2,245	,025	,247
Manzanilla-Combinación	-63,333	11,134	-5,688	,000	,000
Manzanilla-Clorhexidina	-81,333	11,134	-7,305	,000	,000
Llantén-Combinación	-38,333	11,134	-3,443	,001	,006
Llantén-Clorhexidina	-56,333	11,134	-5,060	,000	,000
Combinación-Clorhexidina	-18,000	11,134	-1,617	,106	1,000

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

Fuente. Ing. Jaime Molina

En la prueba dos a dos son similares cuando la Sig. es mayor a 0,05. Demostrando entonces que son estadísticamente similares entre la Combinación del extracto de manzanilla y llantén y el grupo control Clorhexidina al 0.12% con una Sig. de ( $p = 0,106$ ). El resto de comparaciones son estadísticamente diferentes.

## CAPÍTULO V

### DISCUSIÓN

Como lo demuestra la literatura y varias investigaciones la terapia periodontal convencional es clínicamente efectiva ante cualquier paciente que presente periodontitis crónica. Sin embargo, el uso de terapias complementarias junto con las convencionales, proporcionan una mayor y más rápida recuperación de las condiciones periodontales.

Los resultados obtenidos en la presente investigación demuestran que si existe una efectividad inhibitoria del extracto de manzanilla, extracto de llantén y la combinación del extracto de manzanilla y llantén sobre cepa de *Porphyromona gingivalis* ; comparando así su potencial inhibitorio en la medición de sus halos de inhibición, obteniendo un promedio de efectividad de 10,20mm para el extracto de manzanilla, 12,47mm para el extracto de llantén, y 16,57mm para la combinación del extracto de manzanilla y llantén; así como una media de 17,60mm para el control positivo clorhexidina al 0.12%.

El presente estudio es pionero en su investigación, por lo que no se puede comparar con los resultados obtenidos en otras investigaciones, ya que no existen estudios in vitro frente a *Porphyromona gingivalis*, en los que se haya aplicado el uso de los extractos de manzanilla, extracto de llantén y de la combinación de los extractos de manzanilla y llantén; pero si se lo puede comparar con estudios, en donde se utilizaron otras bacterias orales, enfocados especialmente en la posibilidad de reducir el número de éstas en la cavidad oral.

Gispert y Cantillo en su estudio in vivo para determinar la efectividad estomatológica de una crema realizada a base de aceite esencial de Manzanilla, demostró que luego de cepillarse una vez al día durante 21 días con esta crema dental se pudo observar que se redujo significativamente la acumulación de placa dentobacteriana, gingivitis y la reducción en el número de colonias de *Streptococcus Mutans*. (54) En relación con la gingivitis, ésta investigación concuerda con la de Gaete y Oliva en el año 2012; estudio in vivo), donde

se evidenció que la manzanilla es efectivo en la reducción de la inflamación de la encía. (24)

Se ha reportado también que un extracto de flor de manzanilla produjo *in vitro* una acción inhibitoria sobre el *Streptococcus mutans*, *Pseudomona* y *Cándida Albicans*. (55)

En un estudio *in vitro* realizado por Alvarado Verónica y cols en el año 2012, se demostró que el extracto hidroalcohólico de llantén (*Plantago Major*), posee efectividad inhibitoria sobre cinco cepas bacterianas orales: *Streptococcus Mutans*, *Lactobacillus Acidophilus*, *Actinomyces viscosus*, *Prevotella intermedia*, y *Fusobacterium nucleatum* implicadas en patologías orales como caries dental y enfermedad periodontal; siendo mayor su sensibilidad sobre la bacteria gram negativa *Prevotella intermedia*. (56). Si bien es cierto que dicha investigación no actúa sobre *Porphyromona gingivalis* el procedimiento realizado para la obtención del extracto de llantén y la metodología para determinar el efecto inhibitorio es similar al que se utilizó en el presente estudio, maceración y difusión de disco respectivamente.

Rodríguez Ayne y cols, mediante el uso de una crema *Plantago major*, evidenció actividad antifúngica frente a *Cándida Albicans*, (estudio *in vitro*). (57)

Así como también las propiedades antihemorrágicas descritas en un estudio documental realizado por Abche K y Quiñonez 2005, en el cual se indica que el llantén tiene propiedades astringentes, forma coágulos en heridas y mucosas, siendo eficaz ante la inflamación y sangrado. (58)

De la combinación de extractos de manzanilla y llantén existe únicamente un estudio *in vivo* realizado por Arteaga S, Dávila y cols en el mes de enero del presente año, en donde se utilizó un gel a base de manzanilla y llantén sobre 20 pacientes que presentaban gingivitis, demostrando después de 18 días que todos presentaron mejoría clínica como color, consistencia, textura, contorno e inflamación de los tejidos blandos, y al realizar nuevamente el sondaje en todos se evidenció la ausencia de sangrado; concluyendo los autores de este estudio que con la aplicación de un gel de bajo costo y de fácil fabricación, se obtuvieron resultados altamente satisfactorios que corroboran la efectividad del mismo en la mejora y mantenimiento de la salud oral, siendo mayor que al ser utilizadas las plantas de manzanilla y llantén individualmente (59)

Los estudios existentes realizados tanto in vitro como in vivo entorno a este campo, demuestran la utilidad potencial de estos fundamentos para controlar las principales afecciones e infecciones de la boca como son la Caries dental y Enfermedad periodontal así como también la Halitosis y Candidiasis.

Es así como Moreno Arisleidis y Cañada Alfredo en su investigación justifican el uso de la fitoterapia combinada, argumentando que los pacientes continúan sus indicaciones médicas en la casa porque las afecciones necesitan curaciones durante varios días y las plantas para tal objetivo pueden ser adquiridas del medio natural o en las farmacias, lo cual resulta barato, asequible y de fácil administración, a la vez que constituye un impacto socioeconómico y corrobora los criterios actuales de incrementar el empleo de la medicina natural y tradicional, como alternativa terapéutica con que cuenta el pueblo. (60)

## CAPÍTULO VI

### CONCLUSIONES

- Se determinó mediante la presente investigación in vitro que el extracto de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), extracto de llantén (*Plantago major L.*) y la combinación del extracto de manzanilla y llantén si poseen un efecto inhibitorio sobre el crecimiento bacteriano de *Porphyromona gingivalis*.
- El extracto de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) presentó efecto inhibitorio sobre cepa de *Porphyromona gingivalis* con un promedio en sus halos de inhibición de 10,20 mm, seguido del extracto de llantén con una media de 12,57mm.
- Se determinó que la combinación del extracto de manzanilla y llantén posee el mayor efecto inhibitorio sobre cepa de *Porphyromona gingivalis* con un promedio en sus halos de inhibición de 16,47mm
- Al comparar el efecto inhibitorio del extracto de manzanilla (*matricaria chamomilla*), extracto de llantén (*plantago major L.*) y la combinación del extracto de manzanilla y llantén; con la Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis* se determinó que la clorhexidina es mayor con una media de 17,60 mm, seguida de la combinación del extracto de manzanilla y llantén con una media 16,47mm, siendo estadísticamente similares entre sí, determinada por la prueba de análisis Kruskal Wallis.

## RECOMENDACIONES

- ♣ Se recomienda emplear el presente estudio como base para posteriores investigaciones donde las plantas de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), extracto de llantén (*Plantago major L.*) y la combinación de manzanilla y llantén sean aplicadas in vitro en otras bacterias periodonto - patógenas, con el fin de demostrar su eficacia inhibitoria sobre ellas.
- ♣ Realizar el mismo estudio pero con más repeticiones para dar mayor validez científica.
- ♣ Continuar con la investigación sobre el sinergismo de plantas medicinales, con el fin de garantizar la unión o no de éstas como uso medicinal en la salud oral; y a través de la realización de estudios cromatográficos identificar individualmente los componentes del principio activo que actúan sobre las bacterias.
- ♣ Valorar los resultados que arrojó éste estudio a favor de éstas plantas con el fin de aconsejar al profesional Odontólogo a la hora de dar una terapia alternativa coadyuvante para tratar la enfermedad periodontal y que sea del alcance de toda la población tanto urbana como rural.
- ♣ Explorar a fondo todas las propiedades que presentan las plantas medicinales, tanto beneficios y daños antes de ser usados a favor de la salud oral.
- ♣ Elaborar estudios in vivo; que permita determinar el comportamiento de los extractos de manzanilla, llantén y la combinación de los dos, así como también estudios que permitan determinar la sustentividad de éstos.

## BIBLIOGRAFIA

1. Cruz I. Chronic immunoinflammatory Periodontal Disease. Fomento Municipality. 2010. Gaceta Médica Espirituana. 2013; 15(1).
2. Botero J. The immune response in the periodontium: from health to disease and therapeutic implications. Revista Facultad de Odontología Universidad de Antioquia. 2009 Julio; 21(1).
3. Báscones A. Medicina Bucal. Periodoncia: Avances - Obelisco; 2012.
4. Amador P, Galero A, Martinez G. Fármacos tópicos y sistémicos en el control de microorganismos en la periodonitis del adulto. Medicina Oral. 2001.
5. Cabrera y , Aracent. Oral Health in Urban and Rural School Population. International journal of odontostomatology. 2015 Diciembre; 9(3).
6. Martha N. Microbiología Estomatológica: fundamentos y guía práctica Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009.
7. Cruz I, Gretel Ryc. Chronic immunoinflammatory Periodontal Disease. Fomento Municipality. 2010. Gaceta Médica Espirituana. 2013; 15(1).
8. Carranza F. Periodontología Clínica. Octava ed. New York: Elsevier; 2014.
9. Ramos Dyc. Porphyromonas gingivalis: patógeno predominante en la Periodontitis Crónica. ODONTOLOGÍA SANMARQUINA. 2011; 14(1).
10. Peña Sisto Myc. The periodontal disease as a risk for systemic diseases. Revista Cubana de Estomatología. 2008 Enero - Abril; 45(1).
11. Matesanz P. From knowledge of bacterial etiology to the treatment and prevention of the most prevalent infections in the community. Departamento de Estomatología III, Facultad de Odontología, Universidad Complutense. 2005; 18(2).
12. Aguirre Urizar Jyc. Documento de consenso sobre el tratamiento antimicrobiano de las infecciones. Avances en Odontoestomatología - Scielo. 2005 Madrid; 21(6).
13. Petersen E. La OMS publica un nuevo informe sobre el problema mundial de las enfermedades bucodentales. Organización Mundial de la Salud. 2004 Febrero: p. Ginebra.
14. Carvajal P. Enfermedades periodontales como un problema de salud pública: el desafío del nivel primario de atención en salud. Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral - Scielo. 2016 Noviembre; 9(2).
15. Vanaclocha B CS. Fitoterapia, Vademécum de Prescripción Barcelona: Masson; 2003.
16. Esteban A. Manual de Fitoterapia. Soria Natural Golden Class. 1982 España.
17. Pons Sejas E. Medicina Tradicional, Conocimientos prácticos de las plantas medicinales Jimenez P, editor. La Paz: Fundación PIEB; 2005.
18. Ochoa Pacheco A, Gónzales Barrios R. Las reacciones adversas de las plantas medicinales y sus interacciones con medicamentos. MEDISAN. 2006; 10(4).
19. De la Torre L, Navarrete H, Muriel M P, y cols. Enciclopedia de Plantas útiles del Ecuador. primera ed. Ecuador; 2008.

20. Del Valle L. Efecto in vitro de la Matricaria recutita L. sobre la respuesta de linfocitos y neutrófilos. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemote. 2012 Abril - Junio; 28(2).
21. Morón Rodríguez F, y cols. ACTIVIDAD ESPASMOLITICA DEL EXTRACTO FLUIDO DE MANZANILLA EN ÓRGANOS AISLADOS. Revista Cubana. 1996 Enero - Abril.
22. Reservados D. El mundo de las plantas. Botanical on - line. 1997 - 2017.
23. Gaete M, Oliva P. Efectividad del Colutorio de Manzanilla Comparado con Placebo y Clorhexidina en Pacientes con Gingivitis entre 19 y 25 Años. International journal of odontostomatology - Scielo. 2012 Agosto; 6(2).
24. Gaete MJ, Oliva P. Efectividad del Colutorio de Manzanilla Comparado con Placebo y Clorhexidina en Pacientes con Gingivitis entre 19 y 25 Años: Ensayo Clínico Controlado. International journal of odontostomatology. 2012 Agosto; 6(2).
25. Gómez Ugarte M. Camomile and their medicinal properties. Revista de Investigación e Información en Salud. 2015; 10(23).
26. Oliva G&. Efectividad del Colutorio de Manzanilla Comparado con Placebo y Clorhexidina en Pacientes con Gingivitis entre 19 y 25 Años. International journal of odontostomatology - Scielo. 2012 Agosto; 6(2).
27. Linares J. Efecto "In Vitro" del aceite esencial de manzanilla sobre el crecimiento de Enterococcus faecalis ATCC 29212. Perú: Universidad Nacional de Trujillo. 2012.
28. Pinto Dávalos J. valuación de la actividad gastroprotectora de los extractos de llantén (Plantago major). Revista Boliviana BIFARBO. 2008 Agosto; 16(1).
29. Avellano M CI. Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile. Revista Médica de Chile. 2010; 138(1288 - 1293).
30. Neumann Fumeron C. Efecto del Llantén mayor en la cicatrización secundaria de alvéolo post exodoncia: estudio clínico preliminar en adultos. Acta Odontológica Venezolana. 2013 Septiembre; 51(4).
31. Acosta de la luz L. Investigaciones agrícolas en especies de uso frecuente en la medicina tradicional. I. Llantén (plantago major l.). Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2000 Enero - Abril; 5(1).
32. Sabag VAyc. Formation of a phytomedicine from llanten (Plantago major)extract with gastroprotective activities. Revista Boliviana - BIOFARBO. 2012 Diciembre; 18(2).
33. Rodríguez Ayc. Actividad antifungica in vitro de una crema de plantago major l. Revista Cubana. 1996 Septiembre - Diciembre; 1(3).
34. Barrantes MGyc. Aloe vera, llantén y mentol para uso odontológico. Odontología Vital. 2009; 1(10).
35. Pérez Azahuanche Fyc. Extract mixtures of medicinal plants: Synergism or chemical reaction? 2010; 21(1).
36. Botero J BE. Determinantes del diagnóstico periodontal. Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral 0. 2010 Agosto; 3(2).
37. Lindhe J. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Quinta ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2008.
38. Camargo M. & Guzmán MG. Fundamentos de la Odontología, Periodoncia. Revista Javeriana. 2002 Bogotá.

39. Bascones A, Morantes S. Antisépticos orales. AVANCES EN PERIODONCIA. 2006 Abril; 18(1).
40. Pascucci & Giaquinta. Correlation between stress, smoking and periodontal state residents adults. Scielo. 2016 España.
41. Alvear F. Factores de riesgo para las enfermedades periodontales. Rev. Facultad de Odontología - Universidad de Antioquia. 2010.
42. Carrión JJE. Manual SEPA de Periodoncia y Terapéutica de Implantes Buenos Aires - Madrid: Medica Panamericana; 2005.
43. Socransky. Biofilms dentales: Objetivos terapéuticos difíciles. PERIODONTOLOGY 2000. 2003; 3(12 - 55).
44. Antonio BM. Periodoncia Clínica e Implntología Oral. 2nd ed. Dentales A, editor. Michigan; 2001.
45. Riobo García R. Odontología Preventiva y Odontología Comunitaria. Primera ed. Madrid: Ediciones avances Medico Dentales; 2002.
46. Díaz Zuñiga Jyc. Virulence and variability on Porphyromonas gingivalis and Aggregatibacter actinomycetemcomitans and their association to periodontitis. Revista clínica de periodoncia, implantología y rehabilitación oral. Scielo. 2012 abril; 5(1).
47. Torres López M. La clorhexidina, bases estructurales y aplicaciones en la estomatología. Gaceta Médica Espirituana. 2009; 11(1).
48. Rojas Enrile SAA. Colutorios para el control de placa y gingivitis basadas en la evidencia científica. 2005 Agosto; x(4).
49. Pardo Zapata J. Patentabilidad de los extractos vegetales Mayo: Centro de patentes ; 2002.
50. Salud y Medicina. [Online].; 2013 [cited 2013 Febrero 23. Available from: <https://es.slideshare.net/Rennie533/extraccin-de-principios-activos-de-planta>.
51. Valenzuela C. [Online]. [cited 2015 Mayo 18. Available from: <https://claravalenzuela.com/plantas-medicinales/.com>.
52. Picazo J. Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades; 2005.
53. ISP. Manual de Control de Calidad en el Laboratorio Clínico; 1998.
54. Gispert E, Cantillo E, cols y. Crema dental con manzanilla, efecto estomatológico. Revista Cubana de Estomatología - Scielo. 1998 Septiembre - diciembre ; 35(3).
55. Tubaru A. Therapeutic composition having antibacteric activity comprising a fraction extracted from chamomile flowers and process for the preparation for said fraction. ; 22(4).
56. Alvarado Vyc. Plantas medicinales: Efectoantibacteriano in vitro de Plantago major L, Erythroxyllum Plowman var truxillense y Camellia sinensis sobre bacterias de importancia estomatológica. ODONTOLOGÍA SANMARQUINA. 2010 Enero; 13(2).
57. Rodríguez Pargas yc. Actividad antifúngica in vitro de una crema de Plantago major L. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 1996 Septiembre; 1(3).

58. Abche K, Quiñones S.. Uso del Plántago mayor y Matricaria Uso del Plantágo Major como terapia complementaria en el tratamiento de la enfermedad periodontal. Mérida Venezuela. 2005.
59. Arteaga S, Dávila yc. EFECTIVIDAD DEL GEL DE MANZANILLA Y LLANTÉN COMO TERAPIA COADYUVANTE. ACTA BIOCLINICA. 2017 Enero; 7(13).
60. Moreno A, cols y. Uso de la fitoterapia en 3 clínicas estomatológicas de Santiago de Cuba. MEDISAN - Scielo. 2011 Abril; 15(4).

ANEXOS

Anexo 1. Cepa de Porphyromona Gingivalis ATCC33277



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



**MATRIZ**  
Guayaquil: Enrique Ortega Moreira (Av. Las Aguas ) 1111  
y Laureles (Urdesa Central)  
Teléfonos: (04) 288 1414 - 238 8597 - 288 1837  
Celular: (09) 90574 829

**R.U.C. 0992401494**

**RECIBO DE COBRO**

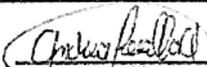
000027450

**SUCURSAL MULTIPLE GUAYAQUIL**  
Victor Emilio Estrada # 916 e Ilanes (Urdesa Central)  
Telfs: 4502 939 - 238 7418 - 288 3946 - 4612 069 - 4518 929 - 4546 210

**SUCURSAL QUITO**  
Av. República de El Salvador N34-399 e Infanta. (La Carolina)  
Edificio Rosania. Planta Baja, Oficinas 4 y 6  
Teléfonos: (02) 226 1478 - 246 8318

**SUCURSAL PORTOVIJEJO**  
Cda. Los Mangos calle Elías Cedeño E/ Bañer Aulia y Manuel Andrade  
Piso 1.  
Telf: (05) 256 5182 Celular: 0958935253

Cliente: <i>Srita. ANDREA CECILIAS</i>		Fecha de Pago: <i>6-04-2017</i>
R.U.C..	Vendedor: <i>CP</i>	
Ciudad:	Teléfono:	
POR CONCEPTO DE: <input type="checkbox"/> ABONO <input type="checkbox"/> CANCELACION		
FACTURA	VALOR	RETENCION
<i>5842</i>	<i>216,29</i>	
<b>FORMA DE PAGO</b>		
BANCO	NUMERO DE CHEQUE	VALOR
EFFECTIVO:		<i>116,29</i>
TOTAL COBRADO:		<i>116,29</i>

  
 CLIENTE  
 c.c. *1003324546*.....

  
 COBRADO POR

\_\_\_\_\_  
 CONTABILIDAD

30 BLOCKS DE 50X3 DESDE EL 0027001 AL 0029500

NOTA: ESTIMADO CLIENTE, FAVOR REVISAR ESTE DOCUMENTO Y FIRMARLO  
SOLO ES VALIDO CON LA FIRMA DEL CLIENTE

**Anexo 2.** Autorización - Laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria de la Escuela Politécnica Nacional.



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

Oficio No. 01143- 2017-CUTGI

Quito, D.M 3 de Julio del 2017

**ASUNTO: AUTORIZACION**

Señor Ingeniero  
GONZALO JACOME  
**DOCENTE DEL LABORATORIO DE QUIMICA ORGANICA  
FACULTAD DE INGENIERIA QUIMICA Y AGROINDUSTRIA  
ESCUELA POLITECNICA NACIONAL**  
Presente

De mi consideración:

Solicito a usted de la manera más comedida permita acudir a la Institución que tan acertadamente dirige al(a) señor(ita) **BORJA VALVERDE VALERIA CAROLINA**, egresado(a) 2016-2017 de la Facultad de Odontología, para realizar el proyecto de investigación cuyo tema es: **"Efecto inhibitorio del extracto de manzanilla (Matricaria Chamomilla), extracto de llantén (Plantago major L) y la combinación del extracto de manzanilla y llantén comparado con la clorhexidina sobre cepas de Porphyromona Gingivallis"**. Para el efecto se requerirá el asesoramiento y la utilización del laboratorio. Requisito previo para la obtención del título de Odontólogo.

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

Atentamente,

**Dra. Karina Farfán  
COORDINADORA UTGI**

SB



**Anexo 3.** Autorización - Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador.



**FACULTAD DE ODONTOLOGIA**

**UNIDAD DE GRADUACIÓN, TITULACIÓN E INVESTIGACION**

Oficio 0955-2017- CUITG

Quito, D.M. 31 de mayo del 2017

Doctor  
**Juan Viteri**  
Jefe del Laboratorio de Microbiología  
Presente

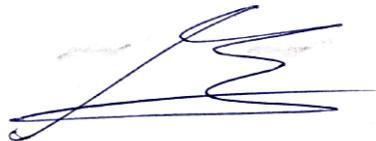
De mi consideración:

Solicito a usted de la manera más comedida permita acudir al Laboratorio de Microbiología, y preste el asesoramiento técnica para el desarrollo del proyecto de investigación al(a) señor(ita): **BORJA VALVERDE VALERIA CAROLINA**, egresada(o)/estudiante de la Facultad de Odontología período 2016-2017, para realizar el Proyecto de Investigación cuyo tema es: **"Efecto inhibitorio del extracto de manzanilla (Matricaria Chamomilla), extracto de llantèn (Plantàgo major L) y la combinación del extracto de manzanilla y llantèn comparado con la clorhexidina sobre cepas de Porphyromona Gingivallis"**. Para la realización de su trabajo requiere utilizar la incubadora y otros equipos para los análisis correspondientes. Requisito previo para la obtención del título de Odontólogo.

Por la favorable atención que se digne dar a la presente, anticipo mi agradecimiento.

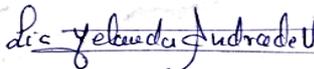
Atentamente,

  
Dra. Karina Farfán  
**COORDINADORA UTGI**



31-05-2017

Sb

Cc: Lic. Yolanda Andrade 

11:25 am

FECHAS EN LABORATORIO:.....

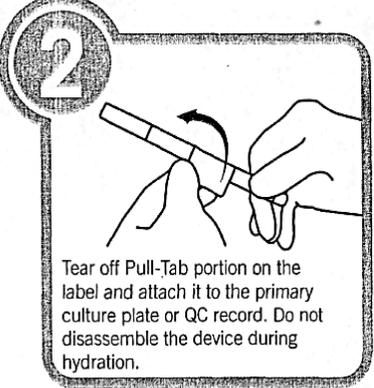
HORAS A UTILIZAR .....

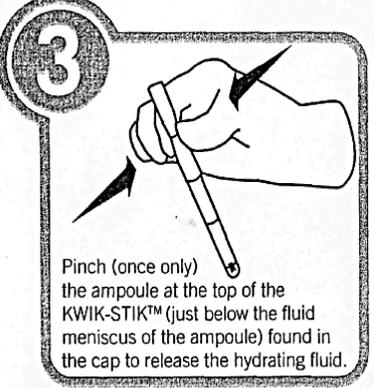
## Anexo 4. Protocolo de activación de la cepa bacteriana Porphyromona Gingivalis

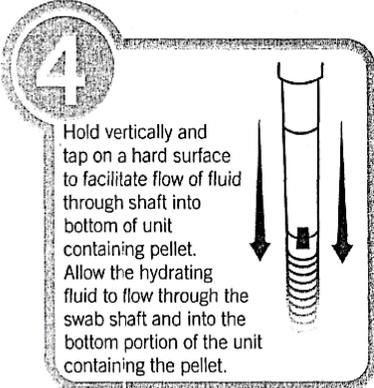
### KWIK-STIK™ Instructions for Use

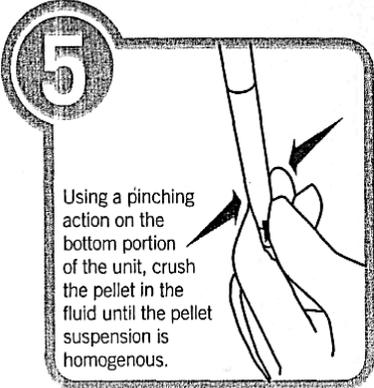
Please add the packaging option to the catalog number when placing an order: P = KWIK-STIK™ 2 Pack,  
S = KWIK-STIK™ 10 Pack. Example: 0335P, 0335S

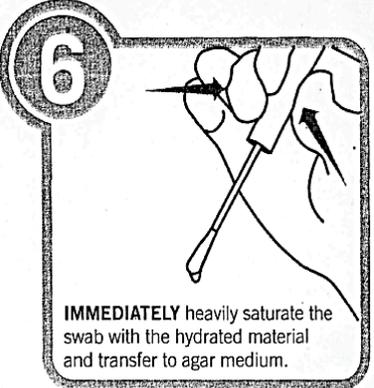
- 

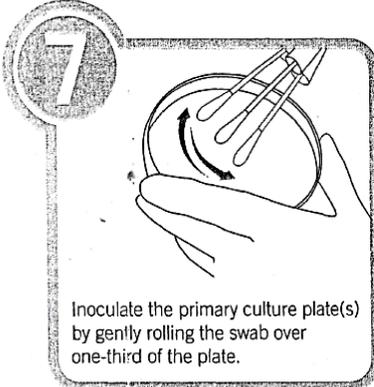
1 Allow the unopened KWIK-STIK™ pouch to equilibrate to room temperature. Tear open pouch at notch and remove the KWIK-STIK™ unit.
- 

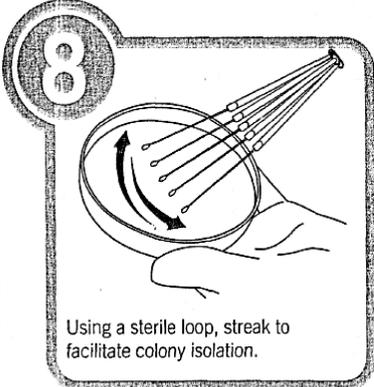
2 Tear off Pull-Tab portion on the label and attach it to the primary culture plate or QC record. Do not disassemble the device during hydration.
- 

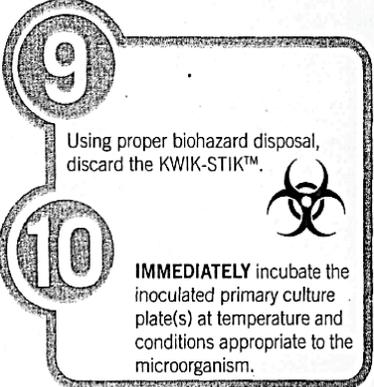
3 Pinch (once only) the ampoule at the top of the KWIK-STIK™ (just below the fluid meniscus of the ampoule) found in the cap to release the hydrating fluid.
- 

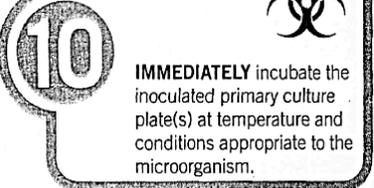
4 Hold vertically and tap on a hard surface to facilitate flow of fluid through shaft into bottom of unit containing pellet. Allow the hydrating fluid to flow through the swab shaft and into the bottom portion of the unit containing the pellet.
- 

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

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

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

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

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

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

Visit [www.microbiologics.com](http://www.microbiologics.com) or call 320.253.1640 to place your order!

**Anexo 5.** Permiso para usar espacios de desechos infecciosos en la Clínica Integral

Quito 31 de mayo del 2017

DOCTORA. MARINA DONA

COORDINADORA GENERAL DE LAS CLÍNICAS.

Presente:

De mi consideración.

Yo, Valeria Carolina Borja Valverde con CI. 0202317012; Egresada de la Facultad de Odontología de la Universidad Central, período 2016-2017, me dirijo a Ud. para solicitarle de la manera más comedida me autorice utilizar los espacios de desechos infecciosos en la Clínica Integral, para depositar los materiales que se utilizarán en el proyecto de investigación cuyo tema es **“ EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO DE MANZANILLA (*MATRICARIA CHAMOMILLA*), EXTRACTO DE LLANTÉN ( *PLANTÁGO MAJOR L.*) Y LA COMBINACIÓN DEL EXTRACTO DE MANZANILLA Y LLANTÉN COMPARADO CON LA CLORHEXIDINA SOBRE CEPAS DE *PORPHYROMONA GINGIVALIS*”**; requisito previo a la obtención del título de Odontóloga; éstos materiales tendrán un peso aproximado de 1kg, cuyo contenido será gorros, mascarillas, guantes de manejo.

Por la favorable atención se digne en dar a la presente, anticipo mis sinceros agradecimientos.

Atentamente



Valeria Borja Valverde

0202317012



## Anexo 6. Manual de desechos

### MANUAL DE DESECHOS

Para realizar la correcta manipulación de desechos se seguirán parámetros establecidos en el Reglamento de manejo de desechos infecciosos para la red de servicios de salud en el Ecuador realizado por el Ministerio de Salud Pública, por lo cual se cita los siguientes artículos:

Art. 4. Para efectos del presente reglamento, los desechos producidos en los establecimientos de salud se clasifican en:

a. Desechos generales o comunes.

**b. Desechos infecciosos.**

c. Desechos especiales.

#### **b.-Desechos infecciosos.**

Son aquellos que contienen gérmenes patógenos que implican un riesgo inmediato o potencial para la salud humana y para el ambiente.

Son desechos infecciosos

b.2 Desechos anátomo-patológicos: órganos, tejidos, partes corporales que han sido extraídos mediante cirugía, necropsia u otro procedimiento médico

Art.10.- Los desechos infecciosos y patológicos serán colocados en recipientes plásticos de color rojo con fundas plásticas de color rojo.

Art.26.-

Los desechos serán recolectados, debidamente clasificados y empacados para transportarlos desde los sitios de generación a los almacenamientos intermedio y final.

Art.28.- El tratamiento de los desechos infecciosos consiste en la inactivación de la carga contaminante bacteriana y/o viral en la fuente generadora

Art. 29.- Los métodos de tratamiento de los desechos infecciosos son:

- a. Esterilización (autoclave): Mediante la combinación de calor y presión proporcionada por el vapor de agua, en un tiempo determinado.

b.-Desinfección química: Mediante el contacto de los desechos con productos químicos específicos.

Art.35.-La disposición final es un método de confinación de los desechos infecciosos y especiales generados en las instituciones de salud, que se realizará de acuerdo a lo establecido en el presente reglamento.

Art.44.-Es Obligatorio que todo el personal que manipula los desechos infecciosos, cortopunzantes, especiales y comunes utilicen las medidas de protección de acuerdo a las normas nacionales e internacionales,

**Anexo 7.** Certificado de la elaboración de la parte experimental del estudio



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR  
FACULTAD DE ODONTOLOGIA  
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA**

Quito 13 de Julio del 2017

**CERTIFICADO**

Certifico que la Señorita Valeria Carolina Borja Valverde con CI. 0202317012, realizó el trabajo experimental in vitro de los extractos de manzanilla, llantén y combinación de manzanilla y llantén sobre Porphyromona Gingivalis; en 30 medios de cultivo; así como también la medición de los halos de inhibición que éstos presentaron para su trabajo final de tesis.

Actividades que se llevaron a cabo en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología.

Dicho estudio se realizó con toda las normas de calidad establecidas.

A handwritten signature in blue ink, reading 'Yolanda Andrade', is written over a horizontal dashed line.

Lcda. Yolanda Andrade

Encargada del Laboratorio de Microbiología

## Anexo 8. Halos de inhibición



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR**  
**FACULTAD DE ODONTOLOGIA**  
**LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA**

**ESTUDIANTE:** Valeria Carolina Borja Valverde

**Muestra:** 30 medios de cultivo

**Extractos:** Manzanilla, llantén y combinación de manzanilla y llantén

Fecha de Análisis: 12 de julio del 2017

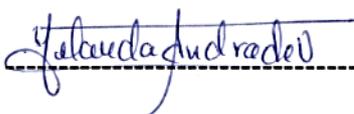
**EFFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO DE MANZANILLA (*MATRICARIA CHAMOMILLA*), EXTRACTO DE LLANTÉN (*PLANTÁGO MAJOR L.*) Y LA COMBINACIÓN DEL EXTRACTO DE MANZANILLA Y LLANTÉN COMPARADO CON LA CLORHEXIDINA SOBRE CEPAS DE *PORPHYROMONA GINGIVALIS***

Medio de Cultivo utilizado: Agar Sangre

Cepa de Estudio: Porphyromona Gingivalis

Nº Muestra	Manzanilla (A)	Llantén (B)	Combinación de Manzanilla y llantén (C)	Clorhexidina (D)	Agua Destilada (E)
1	11mm	12mm	18mm	19mm	0mm
2	10mm	11mm	15mm	17mm	0mm
3	12mm	13mm	16mm	18mm	0mm
4	12mm	14mm	16mm	17mm	0mm
5	10mm	15mm	19mm	16mm	0mm
6	9mm	12mm	16mm	17mm	0mm
7	10mm	12mm	15mm	17mm	0mm

8	9mm	14mm	18mm	18mm	0mm
9	11mm	13mm	16mm	18mm	0mm
10	11mm	14mm	17mm	18mm	0mm
11	10mm	12mm	16mm	19mm	0mm
12	10mm	12mm	16mm	18mm	0mm
13	11mm	11mm	16mm	17mm	0mm
14	8mm	13mm	15mm	18mm	0mm
15	10mm	12mm	16mm	17mm	0mm
16	12mm	13mm	17mm	18mm	0mm
17	11mm	12mm	18mm	17mm	0mm
18	10mm	14mm	17mm	17mm	0mm
19	9mm	15mm	18mm	17mm	0mm
20	11mm	12mm	18mm	18mm	0mm
21	9mm	10mm	15mm	17mm	0mm
22	9mm	12mm	16mm	19mm	0mm
23	10mm	10mm	17mm	18mm	0mm
24	9mm	12mm	16mm	18mm	0mm
25	10mm	13mm	15mm	17mm	0mm
26	12mm	14mm	16mm	18mm	0mm
27	9mm	11mm	16mm	17mm	0mm
28	10mm	13mm	17mm	18mm	0mm
29	11mm	12mm	16mm	18mm	0mm
30	10mm	14mm	17mm	17mm	0mm



Lcda. Yolanda Andrade

Encargada del Laboratorio de Microbiología

Anexo 9. Renuncia al trabajo estadístico

Quito, DM 14 de Julio del 2017

A quien corresponda:

Yo, Ing. Molina Arauz Jaime Reinaldo con CI 1709175275, por el presente renuncio a todos los derechos de autor y propiedad intelectual relacionado al trabajo estadístico, análisis de resultados, matriz o variables realizado en el trabajo titulado **EFFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO DE MANZANILLA (MATICARIA CHAMOMILLA), EXTRACTO DE LLANTÉN ( PLANTÁGO MAJOR L.) Y LA COMBINACIÓN DEL EXTRACTO DE MANZANILLA Y LLANTÉN COMPARADO CON LA CLORHEXIDINA SOBRE CEPAS DE PORPHYROMONA GINGIVALIS** de la Srita. Valeria Carolina Borja Valverde, por lo tanto puede hacer uso del presente como a bien tuviere.

Atentamente:



Ing. Jaime Molina  
CI 1709175275

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR  
FACULTAD DE ODONTOLOGIA  
ENTREGADO  
FECHA 20/7/2017  
FIRMA [Signature]  
UNIDAD DE INVESTIGACION GRADUACION Y TITULACION

THEME: "Inhibitory effect of chamomile extract (feverfew chamomile), plantain extract (plantago major) and the blend of the chamomile extract and plantain one compared with the chlorhexidine on *Porphyromona gingivalis* stain."

**Author:** VALERIA CAROLINA BORJA VALVERDE

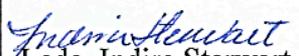
**Tutor:** DR. JUAN PABLO JARAMILLO BURNEO

### ABSTRACT

In the Periodontal disease the use of conventional therapies together with the complementary ones, provide a major recovery of the periodontal conditions; the modern world is retaking the use of the natural medicine to heal or relieve certain diseases, not only for being a healthier, effective and accesible means to the higher part of the society, but because it offers a wide field for study and research, under the perspective that the empirical has a scientific basis. The present research has as aim to demonstrate through an in vitro study, the inhibitory effect of chamomile extract, plantain extract and the blend of chamomile and plantain on *Porphyromona gingivalis* strain. This study was made up in thirty (30) bacterial crops, putting in its interior sterile white embedded discs of each extract, taking as positive control the chlorhexidine at 0,12% and distilled water as negative control. The obtained results in this study reflected a positive effect of inhibition of the three extracts face *Porphyromona gingivalis*; demonstrating thus its inhibitory potential in the measure of its inhibition halos, obtaining an average of the effectiveness of 10,20mm for the extract of chamomile, the plantain extract got 12,47mm, and the blend of the of the chamomile extract and plantain an average of 16,57mm, being higher the inhibitory effect for the blend of the chamomile extract and plantain followed to the inhibitory halo of the control substance Chlorhexidine 0.12% of 17.50mm; resulting these two lasts statistically similar from each other, determined by the Kruskall Wallis analysis test.

**KEY WORDS:** *Periodontal Disease, Porphyromona gingivalis, Feverfew chamomilla, plantago major*

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

  
Lcda. Indira Sterwart.

C.C: 1757623044

Registro Senescyt: 862183198

**UMACAPACITACIÓN**  
CAPACITACIÓN & CONSULTORÍA  
 RUC: 0603266024001  
E-MAIL: umacapacitacion@hotmail.com enter\_pymes@hotmail.com  
Quito: Pasaje Indoamerica Piso 2 Telf: 02-5150-706 / 0999794319



**FORMATO PARA EXPEDIENTE DEL ESTUDIANTE**  
**AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO**  
**INSTITUCIONAL**

**CODIGO:**  
sib-uce.

La información de este recuadro es para el control del registro. Favor no modificarla

Fecha de entrega:	Día: 21	Mes: Septiembre	Año: 2017
-------------------	---------	-----------------	-----------

**INFORMACIÓN DE AUTOR (ES)**

Nombres y apellidos:	Valeria Carolina Borja Valverde	C.I. o pasaporte:	0202317012
Email:	vate_borja@hotmail.es	Año Nacimiento:	1993

Nombres y apellidos:		C.I. o pasaporte:	
Email :		Año Nacimiento	

Nombres y apellidos		C.I. o pasaporte:	
Email:		Año Nacimiento	

**INFORMACIÓN INSTITUCIONAL**

Nombre de la Facultad:	Facultad de Odontología						
Carrera:	Odontología						
Título a optar:	Odontóloga						
Pregrado:	<input checked="" type="checkbox"/>	Especialización:		Maestría:		Doctorado:	
						Institucional:	
						Otro:	
Tutor (es):							

**INFORMACIÓN Y CATEGORÍA DEL DOCUMENTO.** Marque con X (uno o varios)

Artículo de Revista	Revista Académica / Científica	
Capítulo de Libro	Tesis (Maestría y Doctorado)	
Libro	Trabajo de grado (Pregrado y Especialización)	<input checked="" type="checkbox"/>
Memoria de Evento	Otro	
Ponencia	Cual?	
Producción Docente		
Título y subtítulo del documento:		

**DINÁMICA DE INVESTIGACIÓN** (Definida por cada Facultad. Consultar con su Tutor)

Grupo de Investigación:	Microbiología
Línea de Investigación:	Ciencias Odontológicas Básicas
Área:	Bilología Bucal
Tema:	“Efecto inhibitorio del extracto de manzanilla ( <i>Matricaria Chamomilla</i> ), extracto de llantén ( <i>Plantago major L.</i> ) y la combinación del extracto de manzanilla y llantén comparado con la clorhexidina sobre cepa de <i>Porphyromona gingivalis</i> ”

## AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL

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

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

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

### AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

Firma autor*		Cédula:	0202317012
Firma autor*		Cédula:	
Firma autor*		Cédula:	

### ESPACIO EXCLUSIVO PARA EL ASESOR O REPRESENTANTE COMITÉ EVALUADOR DE FACULTAD

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

### AVAL DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL

Nombre tutor*	Juan Pablo Jaramillo Burneo	Email	jpjaramillo@uce.edu.ec
---------------	-----------------------------	-------	------------------------

  
Firma