



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**CARRERA DE ODONTOLOGÍA**

**TEMA:**

**“EFECTO ANTIMICROBIANO DE LA MEZCLA DEL EXTRACTO  
DE LLANTÉN Y MANZANILLA COMPARADO CON  
CLORHEXIDINA EN CEPAS DE *Porphyromona gingivalis*”**

**Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de Odontóloga**

**Autora:** Jessica Consuelo Rosero Guerrero

**Tutora:** MsC. Silvia Alexandra Reinoso Ortiz

**Riobamba-Ecuador**

**2021**

## PÁGINA DE REVISIÓN DEL TRIBUNAL

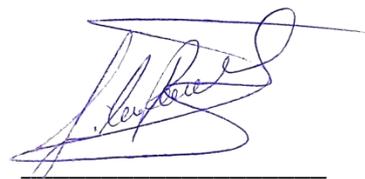
Los miembros del tribunal de revisión del proyecto de investigación: “EFECTO ANTIMICROBIANO DE LA MEZCLA DEL EXTRACTO DE LLANTÉN Y MANZANILLA COMPARADO CON CLORHEXIDINA EN CEPAS DE *Porphyromona gingivalis*”, presentado por la **Srta. Jessica Consuelo Rosero Guerrero** y dirigida por la **MsC. Silvia Alexandra Reinoso Ortiz**, una vez revisado el proyecto de investigación con fines de graduación, escrito en el cual se ha constatado el cumplimiento de las obligaciones realizadas, se procede a la calificación del informe del proyecto de investigación.

Por lo expuesto:

**Firman:**

MsC. Silvia Reinoso Ortiz

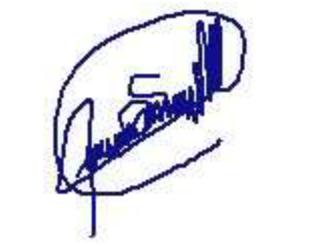
**Tutora**



**Firma**

Dr. Xavier Salazar Martínez

**Miembro del tribunal**



**Firma**

Dr. David Guerrero Vaca

**Miembro del tribunal**



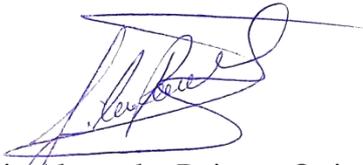
**Firma**

## **CERTIFICADO DEL TUTOR**

La suscrita Docente-tutora de la Carrera de Odontología, de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Universidad Nacional de Chimborazo, MsC. Silvia Alexandra Reinoso Ortiz. CERTIFICA, que la señorita Jessica Consuelo Rosero Guerrero con C.I: 1719922054, se encuentra apta para la presentación del proyecto de investigación: “EFECTO ANTIMICROBIANO DE LA MEZCLA DEL EXTRACTO DE LLANTÉN Y MANZANILLA COMPARADO CON CLORHEXIDINA EN CEPAS DE *Porphyromona gingivalis*”.

Y, para que conste a los efectos oportunos, expido el presente certificado, a petición de la persona interesada, el 25 de septiembre en la ciudad de Riobamba de año 2020.

Atentamente,



MsC. Silvia Alexandra Reinoso Ortiz

CI. 0604631952

**DOCENTE – TUTORA DE LA CARRERA DE ODONTOLGÍA**

## **AUTORÍA**

Yo, Jessica Consuelo Rosero Guerrero, portadora de la cédula de ciudadanía número 171922054, por medio del presente documento certifico que el contenido de este proyecto de investigación es de mi autoría, por lo que eximo expresamente a la Universidad Nacional de Chimborazo y a sus representantes jurídicos de posibles acciones legales por el contenido de esta. De igual manera, autorizo a la Universidad Nacional de Chimborazo para que realice la digitalización y difusión pública de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.



---

Jessica Consuelo Rosero Guerrero

C.I. 1719922054

**ESTUDIANTE UNACH**

## **AGRADECIMIENTO**

Expreso mis más sinceros agradecimientos a la Universidad Nacional de Chimborazo, la cual me abrió las puertas brindándome valiosos conocimientos tanto en el campo académico como moral, y; gratifico mis agradecimientos a cada uno de los docentes de la carrera de Odontología, quienes contribuyeron día a día en mi formación profesional. Agradezco también a la MsC. Silvia Alejandra Reinoso Ortiz quien, con sus conocimientos, dedicación y sobre todo su paciencia guío la realización de este trabajo investigativo, y a cada una de las personas que han aportado con sus valiosos conocimientos para la realización de mi proyecto investigativo.

Jessica Consuelo Rosero Guerrero

## **DEDICATORIA**

A Dios y a la Virgen de Guadalupe, por su bondad y su plan perfecto que han tenido conmigo, ya que me han permitido sobresalir ante todas las adversidades y son quienes me han guiado y han dado luz a mi camino.

A mi madre Consuelo Guerrero quien ha sido la mujer más ejemplar, llena de fuerzas y virtudes, dispuesta a sacarme hacia delante, A mi hermana Cristina, mi segunda madre, una mujer luchadora quien ha generado el apoyo económico en toda mi carrera, ha sido el pilar fundamental y ejemplo de lucha durante mi vida, para así formarme personal, académica y profesionalmente. A mi hermana Fernanda, mi amiga incondicional, gracias por las aventuras que compartimos juntas y por la enseñanza que nos ha dejado cada una de ellas, por ser quien ha formado mi carácter, por cada uno de los consejos para guiarme por el sendero correcto, a mi cuñado Kevin, a pesar de no ser mi hermano de sangre te considero mi hermano de corazón, gracias por la ayuda desinteresada y por echarme la mano cuando más te necesito , y como no agradecer a mis sobrinos Dannelito, Sebitas, Jacobito e Isabelita por su Amor incondicional y desear siempre lo mejor para mí.

A mi enamorado Gary Valencia gracias por tu apoyo incondicional durante este bonito camino, Tu eres mi inspiración encaminada al éxito.

Jessica Consuelo Rosero Guerrero

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
3. JUSTIFICACIÓN.....	6
4. OBJETIVOS.....	7
4.1. OBJETIVO GENERAL .....	7
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	7
5. MARCO TEÓRICO .....	8
5.1. Entorno Bucal.....	8
5.1.1. Microbiota Bucal .....	8
5.2. Enfermedad periodontal .....	9
5.2.1. Periodontitis crónica .....	9
5.3. Factores de riesgo.....	9
5.3.2. Diabetes Mellitus .....	10
5.3.3. Déficit de Vitamina C .....	10
5.4. Género <i>Porphyromonas</i> .....	10
5.4.1. <i>Porphyromona gingivalis</i> .....	11
5.4.2. Patologías que produce <i>Porphyromona gingivalis</i> .....	11
5.4.3. Tratamiento antimicrobiano de <i>Porphyromona gingivalis</i> . .....	12
5.5. Fitoterapia.....	12
5.5.1. Extractos etanólicos .....	12
5.5.1.1. Métodos de extracción .....	13
5.6. Llantén ( <i>Plantago major</i> ).....	13
5.6.1. Actividad Farmacológica del Llantén .....	14
5.6.2. Actividad Antimicrobiana del Llantén.....	14
5.7. Manzanilla ( <i>Matricaria chamomilla l.</i> ).....	15
5.7.1. Actividad farmacológica de la Manzanilla .....	15

5.7.2. Actividad antimicrobiana de la Manzanilla .....	15
5.8. Clorhexidina .....	16
5.8.1. Estructura y características químicas .....	16
5.8.2. Mecanismos de acción .....	17
5.8.4. Efectos adversos.....	18
6. METODOLOGÍA .....	19
6.1. Tipo de la Investigación .....	19
6.2. Diseño de la Investigación .....	19
6.3. Muestra.....	19
6.4. Entorno .....	19
6.5. Técnicas e Instrumentos .....	19
6.5.1. Técnicas .....	19
6.5.2. Instrumentos.....	19
6.6. Análisis estadístico.....	19
6.7. Intervenciones .....	20
6.8. Operacionalización de las variables .....	28
6.8.1. Variable Dependiente.....	28
6.8.2. Variable Independiente .....	28
7. RESULTADOS .....	29
8. DISCUSIÓN.....	33
9. CONCLUSIONES .....	36
10. RECOMENDACIONES .....	37
11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	38
12. ANEXOS.....	45
ANEXO 1. Resultados de los Tratamientos .....	45
ANEXO 2. Certificado por parte del Laboratorio .....	47
ANEXO 3. Resultados del Laboratorio .....	48

ANEXO 4. Permiso de funcionamiento de Laboratorio.....	49
ANEXO 5. Calibración de las máquinas del Laboratorio .....	50

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla Nro. 1. <i>Porphyromona gingivalis</i> .....	28
Tabla Nro. 2. Efecto antimicrobiano de la mezcla del extracto de llantén y manzanilla comparado con clorhexidina.....	28
Tabla Nro. 3. Descriptivos por concentración y control positivo-negativo.....	30
Tabla Nro. 4. Niveles de sensibilidad por extracto.....	31
Tabla Nro. 5. Prueba de normalidad.....	31
Tabla Nro. 6. Estadístico de prueba H1 .....	32

## ÍNDICE FOTOGRÁFICO

Fotografía Nro. 1. Recolección de las plantas de origen vegetal natural. ....	20
Fotografía Nro. 2. Obtención de los extractos alcohólicos de plantas de origen vegetal natural. ....	21
Fotografía Nro. 3. Combinación de los extractos. ....	21
Fotografía Nro. 4. Preparación de las concentraciones de la mezcla de los extractos. ..	22
Fotografía Nro. 5. Obtención de la cepa de <i>Porphyromona gingivalis</i> . ....	22
Fotografía Nro. 6. Activación de la cepa de <i>Porphyromona gingivalis</i> . ....	23
Fotografía Nro. 7. Cultivo de <i>Porphyromona gingivalis</i> . ....	23
Fotografía Nro. 8. Crecimiento de <i>Porphyromona gingivalis</i> . ....	24
Fotografía Nro. 9. Reproducción de <i>Porphyromona gingivalis</i> . ....	24
Fotografía Nro. 10. Prueba bioquímica para identificación de <i>Porphyromona gingivalis</i> . ....	25
Fotografía Nro. 11. Resiembra de <i>Porphyromona gingivalis</i> . ....	26
Fotografía Nro. 12. Rotulación y colocación de los tratamientos en las cajas Petri. ....	26
Fotografía Nro. 13. Medición de los halos de inhibición. ....	27

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico Nro. 1. Medida del halo inhibitorio por extractos. ....	29
---	----

## RESUMEN

El presente trabajo investigativo se lo realizó con la finalidad de dar a conocer al efecto antimicrobiano de la mezcla de llantén (*Plantago major*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla l.*) comparado con clorhexidina en cepas de *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277, esta investigación fue de tipo observacional, de corte transversal y descriptiva. Este estudio se lo realizó en 12 cajas Petri las cuales fueron inoculadas con el microorganismo en Agar sangre suplementadas con vitamina K y Hemina, colocando en su interior discos estériles embebidos en los tratamientos: T1 (extracto al 25%), T2 (extracto al 50%), T3 (extracto al 75%), T4 (extracto al 100%), C+ (Clorhexidina al 0.12%) y C- (Agua destilada), las cajas Petri fueron colocadas en la incubadora a 37°C durante 48 horas. Los resultados fueron procesados en el programa estadístico SPSS versión 25 para determinar la eficacia inhibitoria de cada uno de los tratamientos. Se concluyó que el extracto al 25%, 50%, 75% y 100% presentaron un promedio en el halo de inhibición de  $6.33 \pm 0.50$  mm,  $11.66 \pm 0.70$  mm,  $18.55 \pm 0.72$  mm y  $25 \pm 0.50$  mm respectivamente, siendo el extracto al 100% el que presentó mayor eficacia inhibitoria al igual que la clorhexidina al 0.12% que presentó un promedio de halo de inhibición de 25.55 mm frente a cepas de *Porphyromona gingivalis*, mediante la prueba de Wilcoxon se llegó a la conclusión de que el extracto al 100% y la clorhexidina al 0.12% no presentó diferencia estadísticamente significativas ( $p=0,059$ ).

**Palabras claves:** Efecto antimicrobiano, *Plantago major*, *Matricaria chamomilla l.*, *Porphyromona gingivalis*.

## ABSTRACT

The present research work was carried out with the aim of making known the antimicrobial effect of the mixture of *plantago major* and *matricaria chamomilla l.* compared with chlorhexidine in strains of *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277, this research was observational, cross sectional and descriptive study. This research was carried out in 12 Petri dishes which were inoculated with the microorganism in blood Agar supplemented with vitamin K and Hemin, placing inside them sterile disks embedded in the treatments: T1 (extract at 25%), T2 (extract at 50%), T3 (extract at 75%), T4 (extract at 100%), C+ (Chlorhexidine at 0.12%) and C- (distilled water), the Petri dishes were placed in the incubator at 37°C during 48 hours. The results were processed in the SPSS version 25 statistical program to determine the inhibitory efficacy of each one of the treatments. It was concluded that the 25%, 50%, 75% and 100% extract presented an average inhibitory halo of  $6.33 \pm 0.50$  mm,  $11.66 \pm 0.70$  mm,  $18.55 \pm 0.72$  mm y  $25 \pm 0.50$  mm respectively, being the 100% extract the one that presented the highest inhibitory efficacy, as well as the chlorhexidine at 0.12% that presented an average inhibition halo of 25.55 mm unlike *Porphyromona gingivalis* strains, through Wilcoxon test it was concluded that the 100% extract and chlorhexidine at 0.12% did not present statistically significant difference ( $p=0.059$ ).

**Keywords:** Antimicrobial effect, *plantago major*, *matricaria chamomilla l.*, *porphyromona gingivalis*.

Reviewed by:

Mgs: Sonia Granizo Lara.

**ENGLISH PROFESSOR.**

**c.c. 0602088890**

## 1. INTRODUCCIÓN

El presente trabajo investigativo se refiere a el efecto antimicrobiano de la mezcla del extracto de llantén (*Plantago major*), y el extracto de Manzanilla (*Matricaria chamomilla l.*), en comparación a la Clorhexidina en concentración al 0.12% en cepas de *Porphyromona gingivalis*. Para poder evidenciar el efecto antimicrobiano que presenta frente a este microorganismo. <sup>(1)</sup>

La cavidad oral se caracteriza por tener microbiota diversa, que se coloniza de una forma permanente permitiendo que la homeostasis se mantenga a un nivel óptimo en los seres humanos, de esta manera se obtiene un ecosistema con un pH equilibrado que proporciona beneficios ante la presencia de microorganismos. Sin embargo, existen ciertas alteraciones ya sean físico, químicas y nutricionales, que producen un desequilibrio al ecosistema oral, abriendo una puerta de entrada a posibles infecciones, producidas por la alteración de microorganismos patógenos. <sup>(2)</sup>

Según la OMS (Organización Mundial de la Salud), la fitoterapia es la ciencia que se encarga del estudio de las propiedades terapéuticas que aportan las plantas de origen vegetal natural ya sea para prevenir o curar patologías. A pesar de que muchos de estos productos son limitados en cierta manera, es decir, no se autoriza la administración vía parenteral únicamente se autoriza su administración vía oral o tópica y generalmente son utilizadas para aliviar afecciones leves o moderadas y en ciertos casos enfermedades crónicas. <sup>(3)</sup>

Este estudio es de interés en el ámbito académico y profesional, pues permite conocer las propiedades antimicrobianas que poseen los extractos alcohólicos de plantas de origen natural vegetal frente a microorganismos, en este caso *Porphyromona gingivalis*. Aportando de esta manera, con una posible alternativa natural que inhiba el crecimiento bacteriano o lo elimine por completo. Sobre todo, en tratamientos periodontales donde afecta principalmente este microorganismo y donde el profesional de la salud busca el éxito en los tratamientos.

El presente trabajo investigativo es de tipo observacional, de corte transversal y descriptivo, porque mediante un estudio in vitro se evalúa la actividad antimicrobiana que poseen los extractos alcohólicos de la mezcla del extracto de llantén (*Plantago Major*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla l.*) frente a cepas de *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277. Además, la técnica utilizada en este caso es la observación y el

instrumento en el cual se colocaron los resultados es la bitácora de laboratorio como lista de cotejo.

Para los fines que persigue la actual investigación se evaluó el efecto antimicrobiano de la mezcla de extracto de llantén (*Plantago major*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) comparado con clorhexidina en cepas de *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277, determinando en primera instancia la actividad antimicrobiana de dichos extractos en concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100%, luego se determinó la actividad antimicrobiana que posee la clorhexidina en una concentración al 0.12 % como control positivo, para finalmente identificar si la mezcla del extracto de llantén y manzanilla en las concentraciones indicadas posee mayor efecto antimicrobiano frente a cepas de *Porphyromona gingivalis* en comparación con la clorhexidina al 0.12%.

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La prevalencia de la *Porphyromona gingivalis* a nivel mundial varía dependiendo de la localidad. En Asia existe la prevalencia del 30%, en Japón varía entre el 60-95%, en China del 70%, en Brasil con el 78%, en Estados Unidos con un 87% y en América con un 50%.<sup>(4)</sup> Por lo que es considerado un problema de interés mundial, debido a la presencia de este microorganismo dentro de la cavidad oral de las personas es uno de los principales responsables en producir alteraciones a nivel periodontal produciendo así pérdida de inserción y destrucción ósea, patología conocida como enfermedad periodontal, esta enfermedad afecta a todas las personas a lo largo de su vida abarcando el 70% de toda la población a nivel global.<sup>(5)</sup>

En cuanto al predominio de esta patología se considera que el sexo femenino, es el que menos afecciones presenta en la cavidad oral, en comparación al sexo masculino, puesto que es el sexo femenino es aquel que adquiere más chequeos dentales, y presenta mayores indicadores de salud periodontal incluyendo menor incidencia de placa bacteriana, cálculos y sangrado de sus encías. Los cuales son marcadores para identificar la enfermedad periodontal.<sup>(6)</sup>

Según expresa en su investigación Eke et al citado por Otedo <sup>(4)</sup> en un estudio realizado en Estados Unidos, se evaluó la prevalencia de la enfermedad periodontal en personas adultas, tomando una muestra de 3742 en adultos mayores a 30 años. A los cuales se midió el nivel de inserción y profundidad del sondaje dando como resultado que el 47% de la muestra que representa el 64.7 millones de adultos en los Estados Unidos tenían periodontitis, este porcentaje se lo distribuyó de la siguiente manera: 8.7% personas con periodontitis inicial, 30% periodontitis moderada y 8.5 con periodontitis avanzada.

En el caso de este estudio la problemática a resolver es si la actividad antimicrobiana de la mezcla del extracto de llantén (*Plantago major*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla l.*) en concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% son efectivos frente a *Porphyromona gingivalis*. Como se demuestra en estudios previos, considerando que a nivel mundial la medicina tradicional o medicina no convencional, es considerada una práctica ancestral muy crucial pero poco valorada en el ámbito de la salud, en muchos países esta práctica se la considera una medicina complementaria que se la utiliza para tratar y prevenir enfermedades y que contribuye a mantener la salud de las personas.<sup>(7)</sup> En los últimos años se ha incrementado el uso de plantas naturales de origen vegetal

natural con fines terapéuticos encaminado a la medicina tradicional, llegando a conseguir el 80% de la población en países en vías de desarrollo.<sup>(8)</sup>

En el Ecuador se encuentran una gran variedad de plantas medicinales que contienen productos naturales o secundarios y son los responsables de presentar una actividad biológica, los extractos alcohólicos de estas plantas de origen vegetal natural aportan beneficios al ser humano gracias a sus propiedades antimicrobianas y antifúngicas frente a patologías producidas por hongos o bacterias.<sup>(9)</sup>

En un estudio realizado en la Universidad de los Andes. Mérida Venezuela hace énfasis en la manzanilla (*Matricaria chamomilla l.*) y llantén (*Plantago major*) y las propiedades que estas dos plantas poseen, además explica la existencia de un gel a base de manzanilla al 5% y llantén al 2% como una terapia alternativa para tratamientos periodontales, que como resultado ha dado un recuperación significativa a nivel periodontal con la disminución de la profundidad del sondaje y disminución de las unidades formadoras de colonias de *Porphyromona gingivalis*.<sup>(3)</sup>

Al llevarse a cabo un proyecto investigativo en la Universidad Nacional de Trujillo Perú, se determinó la susceptibilidad microbiana del extracto alcohólico de llantén (*Plantago major*) frente a cepas de *Porphyromona gingivalis* obteniendo como resultado que el extracto en concentraciones del 25% presentó un halo de inhibición de 6.04 mm, el extracto en concentraciones del 50% presentó un halo de inhibición de 7.7 mm el extracto en concentraciones del 75% presentó un halo de inhibición de 11.2 mm y el extracto en concentraciones del 100% presentó un halo de inhibición de 13.2 mm en comparación con la Clorhexidina en la presentación al 0.12% presentando un halo de inhibición de 24.9 mm siendo la *Porphyromona gingivalis* sumamente sensible a este producto.<sup>(10)</sup>

En un Artículo científico publicado en el 2020 por la Facultad Piloto de Odontología de la Universidad de Guayaquil da a conocer que el aceite esencial de manzanilla (*Matricaria chamomilla l.*) presenta una eficacia inhibitoria frente a cepas de *Porphyromona gingivalis* dando como resultado que el aceite esencial en una concentración del 25% presenta eficacia inhibitoria de  $0.52 \pm 0.199$  mm, el aceite esencial en una concentración del 50% presenta eficacia inhibitoria de  $1 \pm 0.2$  mm el aceite esencial en una concentración del 100% presenta eficacia inhibitoria de  $1.7 \pm 0.183$  mm.<sup>(11)</sup>

En un estudio realizado en la Universidad Central del Ecuador da a conocer el efecto antimicrobiano que presenta el extracto de llantén en una concentración del 100% con un promedio del halo de inhibición de 12.57 mm y el extracto de manzanilla en una concentración del 100% con un promedio del halo de inhibición de 10.20 mm, la mezcla de los dos extractos en una concentración del 100% con un promedio de 17.60 mm dando como resultado que la mezcla de estos dos extractos es sumamente sensible frente a cepas de *Porphyromona gingivalis*.<sup>(2)</sup>

### 3. JUSTIFICACIÓN

El presente trabajo investigativo es importante porque nos permite identificar los beneficios que aportan las plantas medicinales, y que en la actualidad ocupan un lugar primordial en el diario vivir de las personas, de la misma forma son utilizadas como tratamientos no convencionales o tradicionales para curar ciertas molestias, estos extractos poseen ciertas capacidades preventivas en aquellos tratamientos de enfermedades orales y aportan beneficios terapéuticos ya sean solos o combinados.

Por otra parte, permite evaluar la actividad antimicrobiana de la mezcla de dos extractos vegetales de origen natural frente a *Porphyromona gingivalis*, promoviendo e incentivando el uso de la medicina tradicional.

De esta manera se aporta con una terapia alternativa y natural, que contribuya a la economía de la población tanto en el sector urbano como rural, que sea de bajo costo y fácil accesibilidad con el único propósito de contribuir a la salud de la población.

La ejecución de este estudio es factible porque es un tema recurrente de interés de esquema alternativo, es factible económicamente, cuenta con asesoría total por parte de la tutora especializada y el responsable del laboratorio quienes controlan toda la ejecución de este proyecto, para cumplir con los fines investigativos.

Los beneficiarios directos son los profesionales de la salud específicamente los odontólogos quienes buscan el éxito en todos sus tratamientos, pues este estudio está encaminado en dar a conocer una alternativa basada en la medicina tradicional de la mezcla del extracto de llantén (*Plantago major*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla l.*) frente a *Porphyromona gingivalis*. Mientras que los beneficiarios indirectos son aquellos pacientes que optan por cambiar la medicina popular por la medicina tradicional ya que al utilizar la medicina no convencional son menos propensos a padecer alteraciones que produce la medicina convencional a largo plazo como es el caso de la Clorhexidina en concentraciones del 0.12% en tratamientos periodontales.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1.OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto antimicrobiano de la mezcla de extractos de llantén (*Plantago major*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla l.*) comparado con clorhexidina en cepas de *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277.

### **4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar la actividad antimicrobiana de la mezcla del extracto de llantén y manzanilla en concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% frente a cepas de *Porphyromona gingivalis*.
- Determinar la actividad antimicrobiana de la clorhexidina al 0.12 % frente a cepas de *Porphyromona gingivalis*.
- Identificar la eficacia antimicrobiana de la mezcla del extracto de llantén y manzanilla en concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% frente a cepas de *Porphyromona gingivalis* en comparación con la clorhexidina al 0.12%.

## 5. MARCO TEÓRICO

### 5.1. Entorno Bucal

El entorno bucal, se encuentra bañado por saliva, una secreción compleja que proviene de las glándulas salivales. El 99% está formado por agua y el 1% restante está formada por sustancias orgánicas e inorgánicas.<sup>(12)</sup> Este entorno bucal es el más susceptible, pues se encuentra expuesto a varias alteraciones producidos por instrumentos utilizados para la higiene bucal u objetos que suelen ser introducidos en la boca como el cigarrillo, palillos, esferos, etc. Estos instrumentos alteran el pH y ayudan a que los microorganismos se desarrollen y se reproduzcan con facilidad. Es importante señalar que la superficie dental es un medio que se encuentra expuesto y por esta razón puede llegar a formar capas de depósitos dentales, que sirve como lugar para la reproducción de microorganismos.<sup>(13)</sup>

#### 5.1.1. Microbiota Bucal

El microbiota bucal se la considera como una agrupación de comunidades de microorganismos que habitan la cavidad bucal, que para sobrevivir dependen de la cantidad de oxígeno, nutrientes, pH, exposición a factores inmunológicos y que a consecuencia de una disbiosis se los considera responsables de producir alteraciones a nivel de la cavidad oral.<sup>(14)(15)</sup>

En la cavidad bucal, se encuentran varios ecosistemas en los que se pueden reproducir los microorganismos como son, los dientes, surco gingival, encía adherida, encía libre, lengua, carrillos, labios, paladar duro y paladar blando; estos tejidos se encuentran recubiertos por alrededor de 280 especies bacterianas y son las responsables de las enfermedades más comunes dentro de la cavidad oral, como las caries dentales y la enfermedad periodontal.<sup>(16)(14)</sup>

La formación del microbiota bucal es compleja para su análisis, puesto que existen varias especies de bacterias habitadas dentro de la cavidad bucal; entre las especies más comunes que encontramos son las del género *Streptococcus*, *Actinomices*, *Veillonella parvula* y *Neisseria*. Pero también existen colonizaciones en células epiteliales de la cavidad bucal como son *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia* y *Porphyromona gingivalis*.<sup>(14)</sup>

## **5.2.Enfermedad periodontal**

La enfermedad periodontal es un problema de salud pública de interés a nivel mundial, pues es considerada una patología crónica inflamatoria de origen multifactorial, que causa la pérdida de órganos dentarios, dificultad masticatoria y estado nutricional deficiente, debido a microorganismos que habitan el área supragingival y subgingival conjuntamente del hospedero susceptible. Considerada la placa bacteriana como el principal factor etiológico de la enfermedad periodontal y con la ayuda de factores sistémicos y factores locales contribuyen a la destrucción de los tejidos de soporte dentario.<sup>(17)(18)(19)</sup>

Según la OMS (Organización Mundial de la Salud), es una enfermedad de interés mundial que afecta a la salud de la población, especialmente a personas que no poseen el hábito de higiene oral generalmente ubicada en habitantes de bajos recursos económicos. Esta enfermedad progresa con lentitud y afecta en su mayoría a personas adultas y en un mínimo rango puede afectar a edades tempranas.<sup>(20)</sup>

### **5.2.1. Periodontitis crónica**

Antiguamente se la conocía como enfermedad del adulto mayor, puesto que se decía que la edad podía ser un factor para su diagnóstico, pero cabe recalcar que hoy en día la edad es solo considerada como un factor; actualmente según evidencia científica se ha llegado a la conclusión que esta se caracteriza porque afecta a personas mayores de 30 años, su tasa de progresión y avance es lenta y la principal característica son los signos presentados dentro de la cavidad bucal como son: placa, cálculo, inflamación gingival y entre los más importantes el grado de destrucción ósea y pérdida de inserción dental.<sup>(21)(22)</sup>

## **5.3.Factores de riesgo**

### **5.3.1. Tabaquismo**

En evidencias científicas analizadas por expertos, llegan a la conclusión que el tabaco es uno de los factores principales de riesgo para que se desencadene alteraciones en la cavidad bucal, provocando con el paso del tiempo periodontitis crónica; el tabaco produce en el ser humano disminución de oxígeno en la cavidad bucal contribuyendo a la reproducción de bacterias en el ecosistema bucal, además afecta directamente a los tejidos de soporte del diente, a su vez actúa en el flujo sanguíneo así pues la cantidad de

sangre es menor e interviene en la cicatrización de los tejidos, por otra parte altera el flujo salival y de esta manera incrementa estas secreciones salivales y se forma el cálculo supra gingival y subgingival esencialmente a nivel lingual, el tabaco está compuesto por nicotina, siendo este principal componente y causante de las alteraciones en la cavidad oral.<sup>(19)(23)</sup>

### **5.3.2. Diabetes Mellitus**

La Diabetes mellitus y la enfermedad periodontal se encuentran relacionadas entre sí, es decir las personas que padecen de diabetes mellitus presentan un porcentaje alto de perder órganos dentales y pueden presentar mayor índice de alteraciones tales como: gingivitis, enfermedad periodontal y caries; por otra parte una enfermedad periodontal no controlada se asocia a un control deficiente de la glicemia, se ha llegado a la conclusión que en pacientes insulino dependientes y no insulino dependientes son más propensos a desarrollar esta patología periodontal así como la diseminación de bacterias periodonto patógenas influyendo negativamente en el control de diabetes.<sup>(24)(25)</sup>

### **5.3.3. Déficit de Vitamina C**

La vitamina C, llamada también ácido ascórbico, es fundamental tanto para el desarrollo como para el crecimiento de cualquier parte del cuerpo humano. El déficit de esta vitamina C, se le conoce con el nombre de Escorbuto, a nivel dental al no existir síntesis de colágeno interfiere en la actividad ontogénica y se produce el deterioro del ligamento periodontal, es por ello que el colágeno actúa como un tejido cicatricial manteniendo el deterioro de hueso y estructuras dentarias.<sup>(26)(27)</sup>

### **5.4. Género *Porphyromonas***

El género *Porphyromonas*, se caracteriza por ser cocobacilos pleomórficos, no móviles y no esporulados, Gram negativos, anaerobios; su principal fuente de energía son los sustratos nitrogenados, los mismos que son responsables de causar alteraciones gingivales y periapicales, así como también causa infecciones a nivel de las mamas, axilas y genitales masculinos. En este género encontramos especies como: *Porphyromona asaccharolytica*, *Porphyromona endodontalis* y *Porphyromona gingivalis*.<sup>(28)(29)</sup>

#### **5.4.1. *Porphyromona gingivalis***

La *Porphyromona gingivalis* es un cocobacilo Gram negativo, su tamaño oscila entre 0.5 - 0.8  $\mu\text{m}$  x 1 - 3.5  $\mu\text{m}$ , es anaerobio, por esta razón habita el área subgingival, donde no existe la presencia de oxígeno, se alimentan de proteínas provenientes del líquido crevicular, carbohidratos fermentados y minerales que se encuentran en los surcos y bolsas periodontales, por su difícil acceso se convierten en un área de proliferación bacteriana; a este microorganismo se lo considera como el principal responsable de la enfermedad periodontal crónica.<sup>(30)</sup>

Este microorganismo, una vez que logra colonizar el tejido, se reproduce con facilidad por el medio anaerobio en el que habita, llega a romper la homeostasis en el surco gingival y por esta razón es que se afectan los tejidos de soporte del diente, causando la destrucción del ligamento periodontal, además destruyendo hueso y tejidos blandos; esta destrucción produce signos notorios en la cavidad bucal como es el incremento de la profundidad del surco, sangrado, movilidad, y muchas de las veces eliminación de un exudado purulento estos son signos propios de la enfermedad periodontal. Además, *Porphyromona gingivalis* contribuye al inicio de ciertas alteraciones sistémicas como: trastornos cardiovasculares y partos prematuros generando a consecuencia de esto neonatos con bajo peso al nacer.<sup>(31)(32)</sup>

#### **5.4.2. Patologías que produce *Porphyromona gingivalis***

La enfermedad periodontal es la alteración inflamatoria crónica más común, se caracteriza por la destrucción de tejidos de revestimiento del diente y destrucción de los tejidos de soporte dental. *Porphyromona gingivalis* posee una capacidad para degradar tejido conectivo por el cual está formada la membrana basal, además degrada colágeno tipo IV y Fibronectina, de esta manera altera las células y produce pérdida de tejido epitelial, pérdida de soporte dentario e induce a la pérdida de hueso alveolar.<sup>(30)</sup> Sus factores de patogenicidad se encuentran específicamente en su estructura ya que poseen fimbrias que ayudan a que se adhiera con facilidad a los tejidos y permanezca por un tiempo más prolongado.<sup>(32)</sup>

Entre otras patologías sistémicas que produce *Porphyromona gingivalis* mencionamos a la Aterosclerosis (depósitos de placa dentro de las arterias), la neumonía por aspiración (inflamación de los pulmones, producto de la aspiración secreciones de la cavidad bucal), alteraciones durante el embarazo (alteraciones hormonales, y aumento de

estrógenos y progesterona que producen esta patología), artritis reumatoide (dolor y pérdida de la función en articulaciones).<sup>(30)</sup>

#### **5.4.3. Tratamiento antimicrobiano de *Porphyromona gingivalis*.**

El tratamiento antimicrobiano para la eliminación e inactivación de la *Porphyromona gingivalis* es la remoción de las comunidades de microorganismos enclavados en un glucocáliz, unidos por una superficie sólida (biofilm), también es importante mejorar técnicas de cepillado y utilizar colutorios de clorhexidina en la presentación al 0.12% dos veces al día, y antibioticoterapia con 500 mg Amoxicilina y 500 mg Metronidazol cada 8 horas.<sup>(31)</sup>

### **5.5. Fitoterapia**

La fitoterapia también conocida como terapéutica con las plantas, es considerada una ciencia que estudia la utilización de los principios activos de las especies vegetales, para dar solución a enfermedades en un estado inicial y en estados avanzados que se los considera patológicos; además es considerada una práctica antigua, pues el ser humano desde su origen natural ha creído en ciertos dones para curar y la mayoría de ellos lo ha realizado a base de plantas naturales, estos conocimientos se han ido transmitiendo desde generaciones ancestrales y que en la actualidad han generado avance gracias a la ciencia y la tecnología.<sup>(26)</sup>

La OMS (Organización Mundial de la Salud) en sus normas señala “*La fitoterapia tiene efectos y mecanismos de acción muy claros. En sí, son drogas vegetales que hacen el mismo efecto que un medicamento químico, pero reduciendo los efectos adversos y las interacciones*”. Estas drogas utilizadas y realizadas por los ancestros suelen ofrecer beneficios y no presentan efectos adversos como las drogas químicas.<sup>(33)</sup>

#### **5.5.1. Extractos etanólicos**

Son extractos caracterizados por emanación de un olor característico, los cuales son obtenidos de los productos de origen vegetal natural previamente desecados, por el método de maceración o percolación acompañado con un solvente, que puede ser el etanol. Conviene resaltar que este proceso también sirve para eliminar algunos componentes y de esta manera mejorar la calidad del producto que deseamos obtener.<sup>(34)</sup>

### 5.5.1.1.Métodos de extracción

Este método consiste en extraer la parte activa de plantas naturales, los cuales son muy utilizados en la industria farmacéutica, entre los principales métodos de extracción tenemos la maceración y la percolación.<sup>(35)</sup>

- **Maceración**

El método de maceración consiste en extraer la parte activa de las plantas de origen vegetal natural a una temperatura al ambiente, este procedimiento es muy minucioso, se coloca en un recipiente con tapa los productos de origen vegetal natural, acompañado de un solvente el cual puede ser agua o etanol, esta mezcla de la deja reposar por un lapso de 2 a 14 días realizando agitaciones repetitivas, posterior a la extracción del líquido, se exprime el residuo, y se obtiene el solvente en un evaporador rotatorio, por consiguiente, obtenemos el extracto de los productos de origen vegetal natural; En éste tipo de método de extracción se tiene preferencia en utilizar el etanol, debido a que el agua genera fermentación y formación de un hongo denominado en la ciencia moho.<sup>(34)</sup>

- **Percolación**

El método de la percolación, también se le conoce científicamente con el nombre de lixiviación. Este proceso consiste en utilizar disolventes orgánicos en frío, de tal manera preservando los compuestos termolábiles que contengan los productos de origen vegetal natural, respecto a cómo se extrae el principio activo consiste en colocar el producto de origen vegetal previamente desfragmentado en un recipiente cónico, al mismo tiempo colocar un disolvente dentro del mismo, y es aconsejable ir agregando el disolvente constantemente.<sup>(34)</sup>

### 5.6. Llantén (*Plantago major*)

El llantén, es una planta proveniente de los continentes de Europa y Asia, abunda en el continente americano por lo cual es muy común encontrarla en zonas de ladera, cerca de cultivos y bordes de caminos, es por ello por lo que se la considerado como planta maleza universal. Responde al nombre Científico de *Plantago major*, tiene un ciclo de vida de 6 a 7 meses y crece hasta 60 cm de altura, las hojas son ovaladas y elípticas de 5

a 20 cm de largo, las flores son de color blanco verdoso en forma de espigas de 10 a 20 cm de largo, los frutos presentan una capsula de semillas ovaladas de 3 a 4 mm, 2 celdas con 6 a 30 semillas de forma ovoide, de color café o negro cubiertas totalmente de mucílago. Por otra parte, es importante resaltar que las hojas y las semillas son más utilizadas, pues contienen mayor concentración de los componentes activos.<sup>(2)(10)</sup>

### **5.6.1. Actividad Farmacológica del Llantén**

El llantén (*Plantago major*) es una planta ampliamente comercializada gracias a sus propiedades antiinflamatorias, antibacterianas, astringentes, antihemorrágicas y cicatrizantes, también debido a su gran contenido de aucubina que lo encontramos en el tallo, hojas y flores, esta planta es principalmente utilizada en enfermedades respiratorias, ya que posee propiedades descongestionantes y expectorantes.<sup>(2)(10)</sup>

Por otra parte, las hojas específicamente presentan una propiedad antiinflamatoria, gracias a los componentes que encontramos en la cera de estas, ayudan a regenerar heridas. Así pues, al ser esta una planta majosida se destaca por presentar una actividad antibacterial, los flavonoides son aquellos pigmentos naturales que tienen los vegetales que cuentan con propiedades antioxidantes, de esta manera protegen a daños producidos en el organismo. Entre las diferentes propiedades que presenta el llantén y los usos en el campo de la Salud, se destaca sus propiedades astringentes, que ayuda a controlar los daños estomacales, disentería y amebiasis. Dicho de otra manera, la infusión de hojas secas del llantén ayuda a disminuir entre un 82 a 95% la acidez gástrica. Además, presenta una propiedad hemostática, puesto que ayuda elevar la coagulación y de esta manera ayuda a curar heridas.<sup>(36)</sup>

### **5.6.2. Actividad Antimicrobiana del Llantén**

Los estudios científicos realizados han dado como resultado que el Llantén (*Plantago major*), ayuda a disminuir de manera significativa enfermedades inflamatorias de la cavidad oral agudas o crónicas, producto de una proliferación bacteriana. Actuando directamente en algunas bacterias como son *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola* y *Campylobacter rectus* y *Porphyromona gingivalis*.<sup>(2)(37)</sup> Cabe recalcar que la aucubina que posee el llantén, tiene una excelente capacidad protectora por lo cual se le atribuye la capacidad antimicrobiana de la planta.<sup>(38)</sup>

## **5.7. Manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.)**

La manzanilla, es una planta medicinal proveniente de sureste del continente europeo, y posteriormente se expandió al continente americano, crece en terrenos arenosos, cultivados y baldíos, por lo cual hoy en día es muy común encontrarla en cualquier parte del mundo gracias a que es una planta que se adapta a cualquier clima y suelo. Responde al nombre Científico de *Matricaria chamomilla* L., crece entre 50 a 60 cm de altura, las hojas son alternas y sésiles, las flores oscilan entre 20 unidades, con pétalos blancos que cuelgan a medida que avanza su maduración y flósculos Penta lobulados de color amarillo, presentan un sabor amargo y tienen un aroma característico a manzana, es por esta razón el porqué de su nombre. Por otra parte, es importante resaltar que las flores contienen la parte activa de la planta, y donde se almacenan la parte activa de los compuestos químicos y utilizados en la industria farmacéutica.<sup>(2)(39)</sup>

### **5.7.1. Actividad farmacológica de la Manzanilla**

La manzanilla es una planta medicinal muy comercializada a nivel mundial gracias a sus propiedades antiinflamatorias, antiespasmódica, sedante, anti arritmica y cicatrizante, los extractos o infusiones de esta planta específicamente de las flores contienen chamozuelo, que es un inhibidor de la síntesis de leucotrienos, a su precursor y al (-)- $\alpha$ -bisabolol, de esta manera actúa como antiinflamatorio natural, también al aplicarlo en forma de compresas ayuda a aliviar, erupciones y afecciones de la piel. Así mismo esta presenta propiedades antiespasmódica y sedante porque actúa contra cólicos estomacales y espasmos intestinales, el aceite de manzanilla, es eficaz para prevenir alteraciones del ritmo cardíaco, aplicándolo específicamente en alteraciones como tortícolis, dolores reumáticos y contusiones, el mucílago que presenta esta planta, se destaca por presentar una propiedad cicatrizante para la piel y mucosa, al realizar lavados de heridas actúa como cicatrizante y ayuda a desinflamar.<sup>(39)(40)</sup>

### **5.7.2. Actividad antimicrobiana de la Manzanilla**

Estudios científicos realizados in vitro sobre la actividad antimicrobiana del extracto de manzanilla han dado como resultados acciones antimicrobianas sobre, *Pseudomona*, *Klebsiellas* y *Candadas*; gracias a su compuesto orgánico el ácido cafeico presenta una acción frente a *Streptococcus mutans*; por otro lado, el aceite de manzanilla es muy utilizado para tratar abscesos dentales, gingivitis, conjuntivitis y más infecciones puesto que inhibe el crecimiento de microorganismos.<sup>(41)</sup>

## 5.8. Clorhexidina

El gluconato de clorhexidina, se lo ha venido utilizando desde aproximadamente 50 años, inicialmente se lo utilizó en endodoncia para desinfectar conductos radiculares y para desinfección de la cavidad bucal, en 1970 Løe y Schiott, realizaron un estudio científico que colocó a la clorhexidina en el campo de la periodoncia, demostrando que al colocar un enjuague bucal con clorhexidina al 0.2% en la cavidad oral durante 1 minuto, dos veces al día, sin emplear un cepillado dental, reducía la formación de placa bacteriana y el desarrollo de gingivitis; la clorhexidina se la encuentra en tres presentaciones: digluconato, acetato e hidrocloreto, siendo el digluconato en concentraciones del 20% y 12% el más elegido en la industria farmacéutica; el efecto antibacteriano de la clorhexidina depende de su concentración, en concentraciones bajas del 0.02% al 0.06% presenta una actividad bacteriostática, mientras que a concentraciones más altas como al 0.12% presenta una actividad bactericida, la actividad de la clorhexidina depende estrictamente del pH del medio ambiente que oscila entre 5.5 a 7 y reduce considerablemente su actividad ante la presencia de sustancias como: sangre, exudados purulentos, sustancias jabonosas, sueros y compuestos aniónicos.<sup>(42)(43)</sup>

### 5.8.1. Estructura y características químicas

Panez en su proyecto de investigación indica *“La clorhexidina es una molécula bicatiónica simétrica, es un dímero proguanil considerado como una bisguanida, la cual está conectada por una cadena central hexametileno, en cada extremo se enlaza un radical paraclorofenil (2 anillos 4 clorofenil), resultando su nombre completo: paraclorofenilbiguanida”*.<sup>(44)</sup>

La clorhexidina es un puente de hexametileno, pues es considerada una base dicatiónica, compuesta por dos cargas positivas en los extremos de dicho puente, este compuesto dicatiónico soporta un pH superior a 3.5, dando una propiedad de interacción con los aniones lo que es relevante para su seguridad, eficacia, efectos colaterales y su dificultad para formularla en productos de uso diario. Al ser este un compuesto base se mantiene sólido en forma de sal y se la distribuye como sal de digluconato puesto que es un compuesto soluble al ser expuesta al agua.<sup>(42)(44)</sup>

La clorhexidina se la considera científicamente como un antibacteriano de segunda generación, además de presentar un gran número de propiedades, pero entre los más

importantes es la sustentabilidad, que se encarga de que los cristales de la hidroxiapatita que los encontramos en el esmalte dental se unan de una manera única a la película bacteriana y a proteínas salivales, de esta manera evitamos la colonización de bacterias en un entorno bucal.<sup>(45)</sup>

### **5.8.2. Mecanismos de acción**

La clorhexidina es un antiséptico tópico que posee un mecanismo de acción el cual actúa directamente en la pared celular de los microorganismos, en bajas concentraciones presenta un efecto bacteriostático, aumentando la porosidad de la membrana con filtración intracelular, expulsando de esta manera sustancias con un peso molecular bajo y sustancias con poder molecular como iones de potasio y fósforo y en altas concentraciones presenta un efecto bacteriostático, puesto que produce coagulación o una precipitación citoplasmática, de esta manera contribuye a interferir en las funciones celulares, inhibe la captación de oxígeno, disminuye los niveles de ATP, produciendo así un ambiente letal y genera muerte celular. Al ser absorbida la clorhexidina empieza a liberarse entre 8 a 12 horas, es aquí donde tiene intacto su componente activo y donde garantiza la no formación de colonias bacterianas, posterior a ello después de 24 horas encontramos la clorhexidina en concentraciones muy mínimas, contribuyendo a la formación de colonias bacterianas durante todo este tiempo.<sup>(45)(46)</sup>

Presenta una gran actividad antimicrobiana frente a microorganismos Gram positivos, Gram negativos y frente a hongos; tras el uso prolongado y repetitivo de la clorhexidina los microorganismos tienden a presentar sensibilidad, esto quiere decir que las bacterias no son resistentes a la clorhexidina, pero si desarrollan colonias mucho más sensibles frente a este producto.<sup>(42)</sup>

### **5.8.3. Indicaciones**

Los principales usos exclusivos de la clorhexidina en el área de salud-odontológica son, para tratamientos de gingivitis y periodontitis, este medicamento contribuye a prevenir futuras infecciones post quirúrgicas como es el caso de extracciones y colocación de implantes dentales, pues es un cicatrizante efectivo y ayuda a controlar la placa bacteriana en lugares donde no tiene una higiene bucal adecuada. Además, es utilizado como irritante endodóntico específicamente en dientes deciduos.<sup>(45)(47)</sup>

#### **5.8.4. Efectos adversos**

El principal efecto adverso que produce la clorhexidina es la pigmentación de color marrón en piezas dentales, restauraciones; y en la lengua, estas pigmentaciones no suelen ser tan notorias a simple vista únicamente son identificadas mediante la inspección por parte del profesional. Estas alteraciones son producidas por la interacción entre moléculas, dando como resultado dos grupos el primero, es grupo catiónico que se caracteriza por estar unido a la superficie del diente y el segundo, es el grupo que no se une directamente a la bacteria sino más bien a los productos de las sustancias dietéticas ricas en taninos, siendo estos los responsables de dichas pigmentaciones. Entre otro efecto adverso comúnmente notorio son los alteraciones o cambios del gusto, que puede ser evitado e informado al paciente, recomendando no consumir agua inmediatamente de haber ingerido el producto; cabe mencionar que estas pigmentaciones únicamente pueden ser eliminadas en la clínica y con la ayuda de un profesional de la salud dental.<sup>(45)(47)</sup>

## **6. METODOLOGÍA**

### **6.1. Tipo de la Investigación**

La presente investigación fue de tipo observacional, de corte transversal y descriptiva porque se evaluó mediante un estudio in vitro el efecto antimicrobiano de la mezcla del extracto de llantén (*Plantago major*), y el extracto de Manzanilla (*Matricaria Chamomilla l.*), en comparación con la Clorhexidina al 0.12% en cepas de *Porphyromona gingivalis*.

### **6.2. Diseño de la Investigación**

El presente estudio tuvo un diseño no experimental, de enfoque mixto, in vitro puesto que se realizó en un laboratorio en condiciones estériles, donde el investigador trabajó en los cultivos en un ambiente controlado cumpliendo todas las normas de bioseguridad.

### **6.3. Muestra**

La muestra de estudio fueron de 12 cajas Petri sembradas con la cepa de *Porphyromona gingivalis* y expuestas a la mezcla del extracto de llantén (*Plantago major*) y el extracto de Manzanilla (*Matricaria chamomilla l.*) divididas de la siguiente manera: 3 cajas Petri con el extracto al 25% (T1), 3 cajas Petri con el extracto al 50% (T2), 3 cajas Petri con el extracto al 75% (T3) y 3 cajas Petri con el extracto al 100% (T4). En cada una de estas cajas se coloca un disco con Clorhexidina al 0.12% como control positivo (C+) y un disco con agua destilada como control negativo (C-).

### **6.4. Entorno**

Laboratorios BMI (Bacterial and Microbiology In-Med).

### **6.5. Técnicas e Instrumentos**

#### **6.5.1. Técnicas**

La técnica que se aplicó en la investigación fue la observación.

#### **6.5.2. Instrumentos**

El instrumento que se utilizó fue la lista de cotejo (bitácora de laboratorio).

### **6.6. Análisis estadístico**

En el estudio se utilizó la estadística descriptiva para analizar los halos de inhibición de los extractos vegetales naturales y de esa manera determinar la sensibilidad que presenta

la *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277 ante los mismos. Y los datos recolectados fueron analizados en el programa estadístico SPSS versión 25.

## 6.7. Intervenciones

### ETAPA 1: Recolección de las plantas de origen vegetal natural, el Llantén (*Plantago major*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.)

El día 05/08/2020 en la provincia de Pichincha, en horas de la mañana, el mercado “Calderón” se procedió a recolectar las muestras indicadas 2kg de Llantén (*Plantago major*) y 2kg de manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.), estas plantas tenían que encontrarse totalmente frescas.

#### Fotografía Nro. 1. Recolección de las plantas de origen vegetal natural.



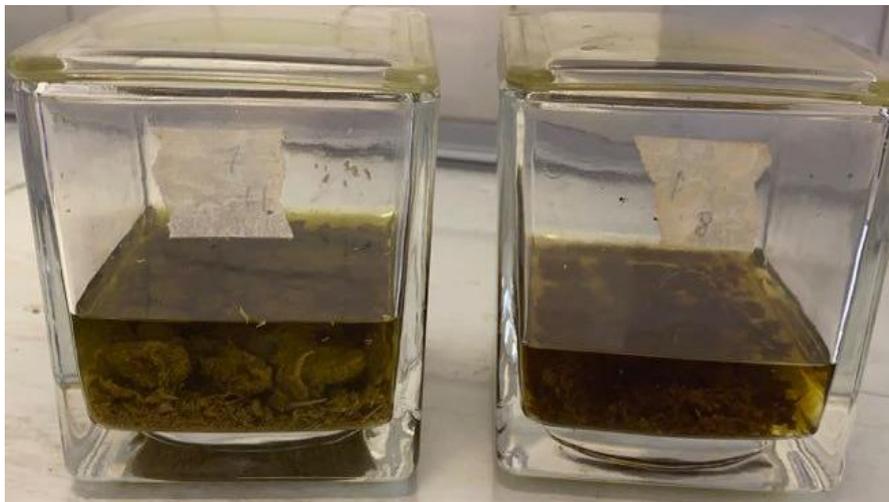
Fuente: Registro fotográfico.  
Autor: Jessica Consuelo Rosero Guerrero.

### ETAPA 2: Obtención de los extractos alcohólicos de plantas de origen vegetal natural. Llantén (*Plantago major*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.)

Se procedió a lavar las plantas de origen vegetal natural con agua y al mismo tiempo a retirar materiales ajenos no pertenecientes a las plantas, posterior a ellos, se realizó una separación de la parte activa de las plantas, es decir las hojas, y se las dejó secar por aproximadamente 6 horas. Se procedió a pulverizar las plantas con la ayuda de un mortero y un pistilo y se las colocó en un recipiente de vidrio de 1/2 litro de capacidad junto con el etanol al 98% el cual se encontraba en un medio oscuro para que no llegue la luz y se dejó reposar por 7 días con agitaciones repetitivas, método denominado

maceración. Una vez culminado el tiempo de maceración se procedió a separar el solvente acuoso de la materia prima mediante un sistema de filtración.

**Fotografía Nro. 2.** Obtención de los extractos alcohólicos de plantas de origen vegetal natural.

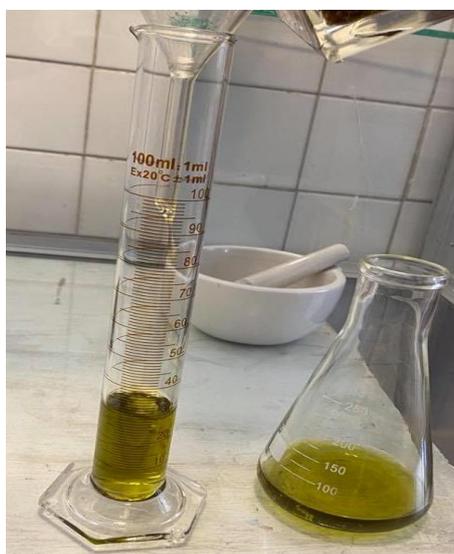


Fuente: Registro fotográfico.  
Autor: Jessica Consuelo Rosero Guerrero.

**ETAPA 3: Combinación de los extractos de Llantén (*Plantago major*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.).**

Una vez obtenidos los extractos, se procedió a introducir los extractos con la ayuda de un embudo en la probeta en la cual se colocó cantidades iguales de los extractos, para que no se altere ninguna concentración.

**Fotografía Nro. 3.** Combinación de los extractos.



Fuente: Registro fotográfico.  
Autor: Jessica Consuelo Rosero Guerrero.

#### **ETAPA 4: Preparación de las concentraciones de la mezcla de los extractos de Llantén (*Plantago major*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.)**

Obtenida la mezcla de los extractos en cantidades iguales se procedió a mezclar con agua estéril para obtener las siguientes concentraciones: 25%, 50%, 75% y 100%. Nos ayudamos de una micropipeta, para colocar la mezcla de los extractos, seguido del agua destilada.

**Fotografía Nro. 4.** Preparación de las concentraciones de la mezcla de los extractos.



Fuente: Registro fotográfico.  
Autor: Jessica Consuelo Rosero Guerrero.

#### **ETAPA 5: Obtención de la cepa de *Porphyromona gingivalis*.**

La cepa de *Porphyromona gingivalis* ATCC-33277, fue comprada en la ciudad de Quito en la empresa Importadora y distribuidora MEDIBAC INC S.A. totalmente inactiva, para su posterior activación.

**Fotografía Nro. 5.** Obtención de la cepa de *Porphyromona gingivalis*.



Fuente: Registro fotográfico.  
Autor: Jessica Consuelo Rosero Guerrero.

### **ETAPA 6: Activación de la cepa de *Porphyromona gingivalis*.**

Para la activación de la cepa de *Porphyromona gingivalis*, se procedió a abrir la bolsa que contenía la bacteria en la cámara de flujo laminar con la finalidad de evitar cualquier tipo de contaminación, posterior a ello, se procedió a agitar el hisopo que se encontraba dentro del recipiente, de forma circular para poder abarcar gran cantidad de la bacteria y a su vez para activarla.

**Fotografía Nro. 6.** Activación de la cepa de *Porphyromona gingivalis*.



Fuente: Registro fotográfico.  
Autor: Jessica Consuelo Rosero Guerrero.

### **ETAPA 7: Cultivo de *Porphyromona gingivalis*.**

Se inoculó las cajas Petri las cuales ya se encontraban preparadas con Agar sangre suplementado con vitamina K y Hemina. Con la técnica de hisopado se procedió a extenderla con suavidad por toda la superficie de la caja Petri y con la ayuda de una varilla totalmente estéril se procedió a estriar en diferentes direcciones por toda la caja Petri para facilitar la posterior formación de colonias.

**Fotografía Nro. 7.** Cultivo de *Porphyromona gingivalis*.

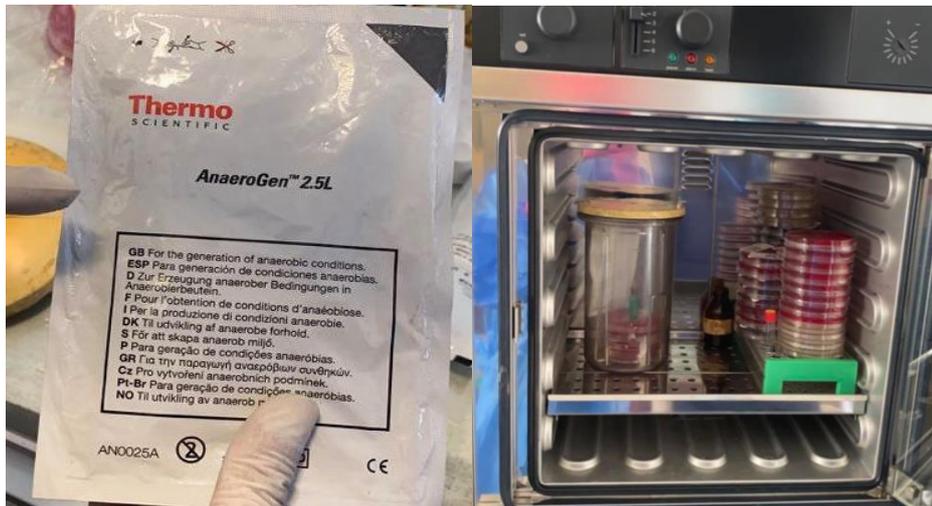


Fuente: Registro fotográfico.  
Autor: Jessica Consuelo Rosero Guerrero.

## ETAPA 8: Crecimiento de *Porphyromona gingivalis*

Una vez realizado el cultivo de *Porphyromona gingivalis*, se procedió a colocar las cuatro cajas Petri en las que se realizó el cultivo dentro de un frasco con una vela encendida y una funda AnaeroGen de 2.5 L, para crear un ambiente totalmente anaerobio, Posterior a ello se colocó el frasco en la incubadora a una temperatura de 37°C para que la bacteria se pueda reproducir con facilidad.

**Fotografía Nro. 8.** Crecimiento de *Porphyromona gingivalis*.



Fuente: Registro fotográfico.  
Autor: Jessica Consuelo Rosero Guerrero.

## ETAPA 9: Reproducción de *Porphyromona gingivalis*

Transcurridos los 7 días se procedió a observar la reproducción de *Porphyromona gingivalis*, con la identificación de colonias que se tornaron de color gris en toda la superficie de la caja Petri.

**Fotografía Nro. 9.** Reproducción de *Porphyromona gingivalis*.



Fuente: Registro fotográfico.  
Autor: Jessica Consuelo Rosero Guerrero.

### **ETAPA 10: Prueba bioquímica para identificación de *Porphyromona gingivalis*.**

Para la respectiva prueba bioquímica se colocó una pequeña muestra de la cepa de *Porphyromona gingivalis* en un tubo de ensayo que contenía Sulfuro Indol Movilidad (SIM) + Aceite natural estéril y se procedió a colocar en la incubadora a 37°C durante 48 horas, de esta manera se identifica la motilidad.

#### **Fotografía Nro. 10.** Prueba bioquímica para identificación de *Porphyromona gingivalis*.

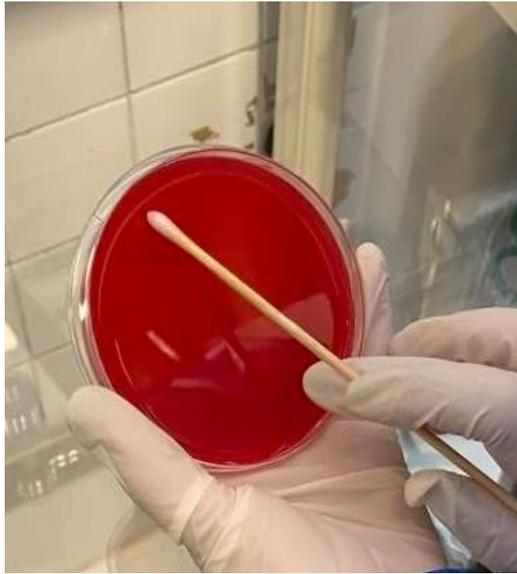


Fuente: Registro fotográfico.  
Autor: Jessica Consuelo Rosero Guerrero.

### **ETAPA 11: Resiembra de *Porphyromona gingivalis*.**

Trascurrido los 7 días del crecimiento de *Porphyromona gingivalis*, se procedió a resembrar el inóculo en las cajas Petri, se tomó con suavidad y con la ayuda de un hisopo estéril un fragmento pequeño de colonias de *Porphyromona gingivalis* y se las introdujo en un tubo de ensayo que contenía caldo de tioglicolato y agitamos para que se disperse por toda la solución hasta que llegue a un punto de medición de 0.5 en la escala de Mc Farland (unidad que se la identifica mediante espectrofotómetro), se procedió a transferir y a extender el hisopo en 3 direcciones diferentes por toda la superficie de las cajas Peri.

**Fotografía Nro. 11.** Resiembra de *Porphyromona gingivalis*.

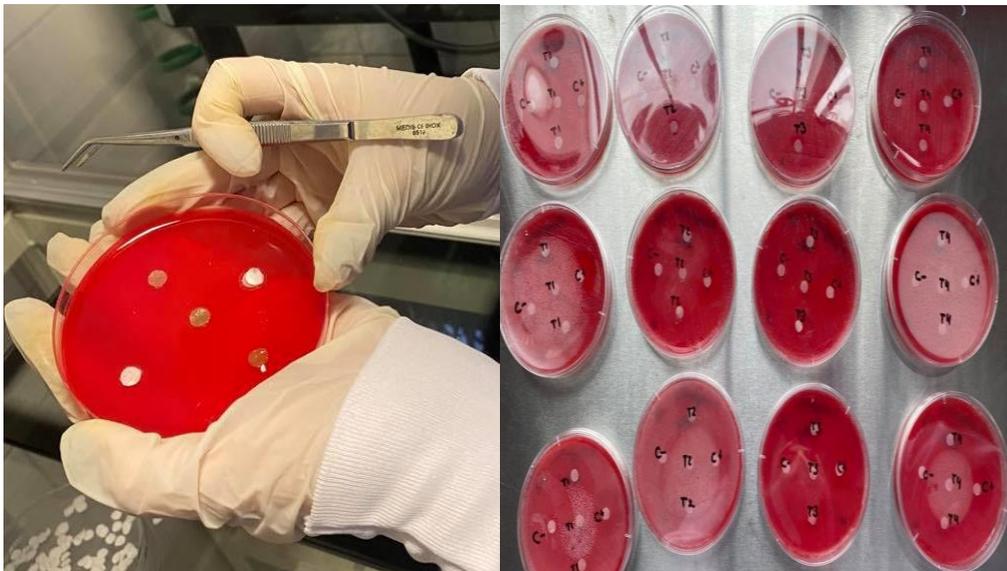


Fuente: Registro fotográfico.  
Autor: Jessica Consuelo Rosero Guerrero.

**ETAPA 12: Rotulación y colocación de los tratamientos en las cajas Petri.**

Se procedió a rotular las tapas de las cajas Petri con sus respectivas abreviaturas donde irán colocados los discos estériles embebidos en los tratamientos propuestos (100µl), posterior a ello se procedió a colocar las cajas Petri en la caja anaerobia y se la dejó reposar en la incubadora a 37°C durante 48 horas.

**Fotografía Nro. 12.** Rotulación y colocación de los tratamientos en las cajas Petri.



Fuente: Registro fotográfico.  
Autor: Jessica Consuelo Rosero Guerrero.

### **ETAPA 13: Lectura de resultados.**

Trascurridos las 48 horas, se procedió a leer los halos de inhibición que se formaban alrededor del disco con cada tratamiento (Método Kirby-Bauer), esto se lo realizó con la ayuda de una regla midiendo cada halo de inhibición por la parte trasera de la caja Petri.

**Fotografía Nro. 13.** Medición de los halos de inhibición.



Fuente: Registro fotográfico.  
Autor: Jessica Consuelo Rosero Guerrero.

## 6.8. Operacionalización de las variables

### 6.8.1. Variable Dependiente

CONCEPTUALIZACIÓN	DIMENSIÓN	INDICADOR	TÉCNICA	INSTRUMENTO
<i>Porphyromona gingivalis</i> es un microorganismo Gram negativo, anaerobio. Es reconocido por ser el causante de producir la enfermedad periodontal en los seres humanos. Además, está asociado a factores de en condiciones sistémicas como la enfermedad cardiaca, aterosclerosis y neumonía.	Microorganismo	Tipo de microorganismo  Cepa	Observación	Lista de cotejo (Bitácora)

**Tabla Nro. 1.** *Porphyromona gingivalis*.

Fuente: Registro fotográfico.  
Autor: Jessica Consuelo Rosero Guerrero.

### 6.8.2. Variable Independiente

**Tabla Nro. 2.** Efecto antimicrobiano de la mezcla del extracto de llantén y manzanilla comparado con clorhexidina.

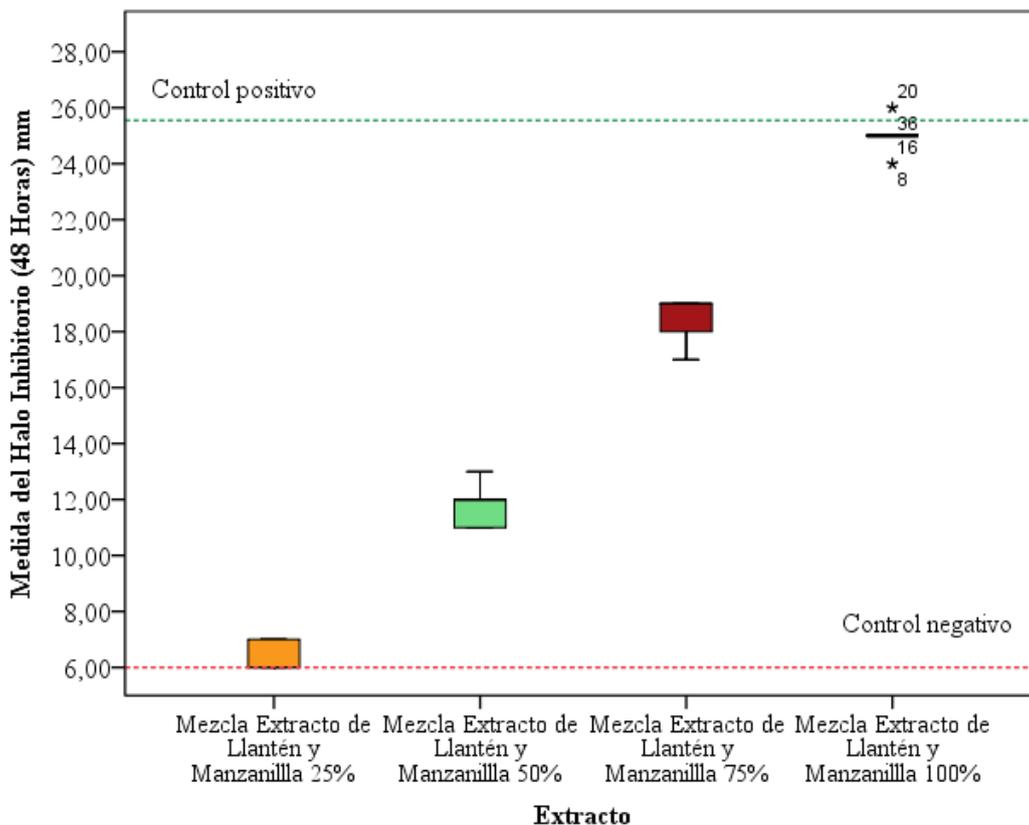
CONCEPTUALIZACIÓN	DIMENSIÓN	INDICADOR	TÉCNICA	INSTRUMENTO
Proceso para destruir o inactivar microorganismos. Por medio de extractos de plantas medicinales que tienen efectos antisépticos, analgésicos y antiinflamatorios.	Efecto antimicrobiano	Nivel de sensibilidad  Medida del halo inhibitorio	Observación	Lista de cotejo (Bitácora)

Fuente: Registro fotográfico.  
Autor: Jessica Consuelo Rosero Guerrero.

## 7. RESULTADOS

Los resultados obtenidos pertenecen a la actividad antimicrobiana que presentó la mezcla de los extractos de llantén (*Plantago major*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla l.*) en diferentes concentraciones frente a *Porphyromona gingivalis*.

**Gráfico Nro. 1.** Medida del halo inhibitorio por extractos.



Fuente: Laboratorios BMI procesado en SPSS versión 25.  
 Autor: Jessica Consuelo Rosero Guerrero.

**Análisis:** Se puede determinar que a partir de los resultados obtenidos la mezcla del extracto de llantén y manzanilla al 25% fue muy cercano al control negativo (Agua destilada), adicionalmente se pudo observar que la mezcla del extracto de llantén y manzanilla al 50% en las pruebas realizadas mostraron un halo de inhibición cercano a 12 mm, de igual manera la mezcla del extracto de llantén y manzanilla al 75% elevó el halo de inhibición a aproximadamente 19 mm y finalmente la mezcla del extracto de llantén y manzanilla al 100% elevó su halo de inhibición de manera considerable al punto de encontrarse próximo al control positivo (Clorhexidina al 0.12%) con un halo de inhibición cercano a 26 mm, en conclusión se puede decir que la mezcla del extracto de llantén y manzanilla al 100% se aproximó considerablemente al control positivo determinado por la Clorhexidina al 0.12%.

**Tabla Nro. 3.** Descriptivos por concentración y control positivo-negativo.

<b>Mezcla Llantén y Manzanilla</b>	<b>Media</b>	<b>Mediana</b>	<b>DE</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>CV</b>
Extracto 25%	6,33	6	0,50	6	7	8%
Extracto 50%	11,66	12	0,70	11	13	6%
Extracto 75%	18,55	19	0,72	17	19	4%
Extracto 100%	25	25	0,50	24	26	2%
Control Positivo	25,55	26	0,50	25	26	2%
Control Negativo	6	6	0	6	6	0%

Fuente: Laboratorios BMI procesado en SPSS versión 25.

Autor: Jessica Consuelo Rosero Guerrero.

**Análisis:** En función de los valores descriptivos, tanto como la Media, Mediana, Desviación estándar, Mínimo, Máximo y Coeficiente de variación se observa que los extractos en diferentes concentraciones presentan un halo de inhibición progresivo y el coeficiente de variación tiende a 0% según aumenta la concentración, es decir a mayor concentración, menor es la variabilidad que determina el valor del halo de inhibición. En conclusión, todas las muestras son consistentes, en el caso de la mezcla del extracto de llantén y manzanilla al 25% presentó una media de halo inhibitorio cercano al control negativo (Agua destilada), mientras que el caso de la mezcla del extracto de llantén y manzanilla al 100% presentó un coeficiente de variación de 2% y el valor promedio fue próximo al control positivo (Clorhexidina al 0.12%).

La escala de Duraffourd, establece cualitativamente el efecto inhibitorio de estudios in vitro, dependiendo del diámetro del halo de inhibición que se forma alrededor de los tratamientos. <sup>(48)</sup>

- Nula: Inferior o igual a 8 mm (-).
- Sensible: de 9 a 14 mm (+).
- Muy Sensible: de 15 a 19 mm (++)
- Sumamente Sensible: igual o mayor a 20 mm (+++).

**Tabla Nro. 4.** Niveles de sensibilidad por extracto

TRATAMIENTO/N°	PROMEDIO	DESV. ESTANDAR	NIVEL DE SENSIBILIDAD
Control (-)	6.00	0.00	Nula
Control (+)	25.55	0.50	Sumamente Sensible
T1 25% (mm)	6.33	0.50	Nula
T2 50% (mm)	11.66	0.70	Sensible
T3 75% (mm)	18.55	0.72	Muy Sensible
T4 100% (mm)	25	0,50	Sumamente Sensible

Fuente: Laboratorios BMI procesado en SPSS versión 25.

Autor: Jessica Consuelo Rosero Guerrero.

Control – (Agua destilada), Control + (Clorhexidina al 0.12%), T1 (Mezcla del extracto de llantén y manzanilla al 25%), T2 (Mezcla del extracto de llantén y manzanilla al 50%), T3 (Mezcla del extracto de llantén y manzanilla al 75%), T4 (Mezcla del extracto de llantén y manzanilla al 100%).

**Análisis:** Cada nivel de muestra de la mezcla de extracto de llantén (*Plantago major*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla l.*) en concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% se ubicó idealmente en cada una de las escalas de medición de Duraffourd, la cepa de *Porphyromona gingivalis* presentó una sensibilidad nula al extracto al 25%, sensible al extracto al 50%, muy sensible al extracto al 75% y sumamente sensible al extracto al 100%.

#### **Análisis de significancia**

Para determinar los niveles de significancia estadística entre los valores reportados por los halos inhibitorios entre las diferentes concentraciones se comprobará la distribución de datos de las variables cuantitativas.

**Tabla Nro. 5.** Prueba de normalidad

	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Control Positivo (Clorhexidina 0,12%) Medida del Halo Inhibitorio (48 Horas) mm	0,633	36	0
	0,888	36	0,002

a Corrección de significación de Lilliefors

Los valores de referencia de la prueba de normalidad indican ser menores a 0,05 por lo tanto se concluye que los datos no tienen una distribución normal, por lo tanto, para la estimación de las pruebas de significancia se considerará los test no paramétricos.

## Hipótesis 1

$H_0$ : No existe diferencias estadísticamente significativas entre el extracto de llantén (*Plantago major*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla l.*) al 100% y la Clorhexidina 0,12%.

IC=95%

Error=5%

Decisión: Si  $p \leq 0,05$  rechazo  $H_0$

Prueba

**Tabla Nro. 1.** Estadístico de prueba H1

**Control Positivo (Clorhexidina 0,12%) - Medida del Halo Inhibitorio (48 Horas) mm**

Z	-1,890b
Sig. asintótica (bilateral)	0,059

a Prueba de rangos con signo de Wilcoxon

b Se basa en rangos negativos.

**Análisis:** el valor reportado por la prueba de Wilcoxon indica ser mayor a 0,05 ( $p=0,059$ ) por lo que se acepta  $H_0$  y se concluye que no existe diferencias estadísticamente significativas entre la mezcla del extracto de llantén (*Plantago major*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla l.*) al 100% y la Clorhexidina 0,12%.

## 8. DISCUSIÓN

En un estudio realizado en la Universidad Nacional de Trujillo, sobre el efecto antimicrobiano del extracto alcohólico del llantén en diferentes concentraciones frente a *Porphyromona gingivalis*, demostró que el extracto en concentraciones del 25% presenta un halo de inhibición de 6.04 mm, el extracto en concentraciones del 50% presenta un halo de inhibición de 7.7 mm, el extracto en concentraciones del 75% presenta un halo de inhibición de 11.2 mm y el extracto en concentraciones del 100% presenta un halo de inhibición de 13.2 mm.<sup>(10)</sup> Además en un estudio realizado por Borja, mismo que dio a conocer la eficacia antimicrobiana frente a *Porphyromona gingivalis*, mostró como resultado que el extracto de llantén en concentración del 100% presenta un halo de inhibición de 12.57 mm y el extracto de manzanilla en concentración del 100% presenta un halo de inhibición de 10.20 mm, mientras que la unión de estos dos extractos presenta un halo de inhibición de 16.47 mm.<sup>(2)</sup> Los resultados obtenidos en la presente investigación presentan similitud con los valores obtenidos con el extracto de llantén, pero no presentan similitud con el extracto de manzanilla, no obstante al mezclar el extracto de llantén (*Plantago major*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla l.*) en concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100%, los resultados sugieren que potencializa la actividad antimicrobiana, que al ser utilizado los extractos individualmente, obteniendo un halo de inhibición de  $6.33 \pm 0.50$  mm,  $11.66 \pm 0.70$  mm,  $18.55 \pm 0.72$  mm y  $25 \pm 0.50$  mm respectivamente frente a cepas de *Porphyromona gingivalis*.

Rueda, en su proyecto investigativo, realizó un estudio in vitro, en el cual puso a prueba cuatro antisépticos orales, donde demostró la susceptibilidad antimicrobiana de Clorhexidina al 0.12% (Encident), perborato de sodio (Borosan), cloruro de cetilpiridonio (Oral B) y aceites esenciales (Listerine) frente a *Porphyromona gingivalis*, observando una eficacia inhibitoria de 17.89 mm, 6.06 mm, 13.33 mm y 6 mm respectivamente.<sup>(49)</sup> Los resultados obtenidos en la presente investigación confirman la susceptibilidad antimicrobiana de la Clorhexidina al 0.12% contra *Porphyromona gingivalis* obteniendo un halo de inhibición de  $25.55 \pm 0.50$  mm.

En el artículo científico publicado por la Revista Estomatológica Herediana, sobre el efecto antibacteriano de extractos etanólicos de plantas utilizadas en las tradiciones culinarias andinas sobre microorganismos de la cavidad bucal, demostró que el extracto de Orégano (*Origanum vulgare*) en concentraciones del 25%, 50% ,75 % y 100%

presentaron un halo de inhibición de 8.75 mm, 11.05 mm, 12.78 mm y 16.47 mm respectivamente, siendo la cepa de *Porphyromona gingivalis* sensible a las concentraciones del 25%, 50% y 75% y muy sensible en concentraciones del 100% de acuerdo a la escala de Duraffourd. Mientras que el extracto de Chincho (*Tagetes eliptica*) en concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% presentaron un halo de inhibición de 8.46 mm, 10.46 mm, 12.03 mm y 14.23 mm respectivamente, siendo la cepa de *Porphyromona gingivalis* sensible a todas las concentraciones de acuerdo con la escala de Duraffourd. Asimismo, el extracto de Huacatay (*Tagetes minuta*) en concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% presentaron un halo de inhibición de 7.96 mm, 8.78 mm, 10.28 mm y 15.96 mm respectivamente, siendo la cepa de *Porphyromona gingivalis* sensible a las concentraciones de 50% y 75%, nula a la concentración del 25% y muy sensible a la concentración del 100% de acuerdo a la escala de Duraffourd.<sup>(50)</sup> Además en un Artículo científico publicado por la revista “odontología”, sobre el efecto antibacteriano del extracto etanólico del botoncillo (*Acmella repens*) sobre *Porphyromona gingivalis* demostró que el extracto en concentraciones del 25%, 50% y 100% presentó un halo de inhibición de 0 mm, 0 mm y 10.6 mm respectivamente, siendo la cepa de *Porphyromona gingivalis* sensible en concentraciones del extracto al 100% y nula en concentraciones del extracto al 25% y 50% de acuerdo a la escala de Duraffourd.<sup>(51)</sup> Los estudios mencionados se contraponen a los resultados obtenidos en al presente investigación ya que el extracto de la mezcla de llantén (*Plantago major*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla l.*) en concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% se ubicaron idealmente en la escala de Duraffourd y presentaron un halo de inhibición de  $6.33 \pm 0.50$  mm,  $11.66 \pm 0.70$  mm,  $18.55 \pm 0.72$  mm y  $25 \pm 0.50$  mm respectivamente, la cepa de *Porphyromona gingivalis* mostró una sensibilidad nula al extracto al 25%, sensible al extracto al 50%, muy sensible al extracto al 75% y sumamente sensible al extracto al 100%. Finalmente, los estudios citados no tuvieron un efecto de sensibilidad alto como se evidenció en el sinergismo de estas plantas.

En el artículo científico publicado por la revista “odontología” sobre la eficacia inhibitoria del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* sobre cepas de *Porphyromona Gingivalis* demostró que la diferencia estadísticamente significativa entre el aceite y la clorhexidina al 0.12% es de ( $p < 0.001$ ).<sup>(48)</sup> Además, en el artículo científico publicado por la Revista Estomatológica Herediana, sobre el efecto antibacteriano de extractos etanólicos de plantas utilizadas en las tradiciones culinarias andinas sobre

microorganismos de la cavidad bucal, demostró que la diferencia estadística entre Clorhexidina al 0.12% y los extractos de Orégano (*Origanum vulgare*), Chincho (*Tagetes eliptica*), Huacatay (*Tagetes minuta*) fue de ( $p < 0.0177$ ), ( $p < 0.002$ ), ( $p < 0.0008$ ) respectivamente.<sup>(50)</sup> Los resultados obtenidos de la diferencia estadísticamente significativa en la presente investigación se contraponen a los estudios mencionados, porque se demostró que la mezcla del extracto de llantén (*Plantago major*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla l.*) en concentraciones del 100% y la clorhexidina al 0.12% no mostró diferencias estadísticamente significativas de ( $p = 0,059$ ).

## 9. CONCLUSIONES

La evaluación in vitro de las mezclas de los extractos alcohólicos de llantén (*Plantago major*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla l.*) al 50%, 75% y 100%, demostró el efecto antimicrobiano frente a cepas de *Porphyromona gingivalis*, y el efecto inhibitorio se potencializa a mayor concentración.

Se demostró la susceptibilidad de *Porphyromona gingivalis* frente a la clorhexidina al 0.12%, antiséptico de mayor elección en el campo odontológico específicamente en el área de la periodoncia, comparando los halos de inhibición se reporta un promedio de  $25.55 \pm 0.50$  mm siendo sumamente sensible según la escala de Duraffourd.

El extracto de la mezcla del llantén (*Plantago major*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla l.*) en concentración del 100% posee el mismo efecto antimicrobiano que la clorhexidina al 0.12%, en comparación con la escala de Duraffourd la cepa de *Porphyromona gingivalis* es sumamente sensible a estos dos tratamientos.

Finalmente se demostró que no existió diferencias estadísticamente significativas entre la mezcla del extracto al 100% de llantén (*Plantago major*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla l.*) y la clorhexidina al 0.12% ( $p=0,059$ ), sin embargo, presentan igual efecto antimicrobiano.

## 10. RECOMENDACIONES

Se recomienda la realización de estudios futuros sobre plantas de origen vegetal natural y el sinergismo de estas, para evidenciar y dar a conocer sus beneficios y de esta manera utilizarlos como una terapia alternativa en patologías orales.

La capacidad de inhibición del Clorhexidina al 0.12% ha sido probada como el Gold standar de principio activo en contra de agentes microbianos por lo que se sugiere en futuras investigaciones probar diferentes marcas comerciales que contengan como principio activo la Clorhexidina al 0.12% y de esta manera determinar si los resultados presentan similitud o variantes según la naturaleza comercial.

Se debería realizar estudios utilizando la mezcla del extracto de llantén (*Plantago major*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla l.*) en diferentes concentraciones frente a otros microorganismos que producen patologías orales, y de esta manera comprobar el efecto antimicrobiano que posee contra los mismos.

Se sugiere que para estudios futuros se amplíen los resultados obtenidos con miras al desarrollo de un enjuague bucal que contenga como principio activo la mezcla del extracto de llantén (*Plantago major*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla l.*) en concentraciones del 100%, para demostrar y evidenciar la eficacia obtenida en el presente trabajo.

## 11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hurtado Camarena A, Bojórquez Anaya Y, Montaña Pérez M de L, López Mendoza JA. Bacterias asociadas a enfermedades periodontales. Oral [Internet]. 2016;17(54):1374–8. Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/oral/ora-2016/ora1654f.pdf>
2. Borja Valverde VC. 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* [Internet]. Universidad Central del Ecuador; 2017. Available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/12747/1/T-UCE-0015-758.pdf>
3. Gutiérrez R, Albarrán R. Uso de plantas medicinales como terapia coadyuvante en el tratamiento periodontal. Revisión de la literatura. Rev Oodontológica los Andes. 2020;15(1):102–15.
4. Otedo Pérez A. Periodontitis asociada a *Porphyromonas gingivalis*: prevalencia, susceptibilidades antimicrobianas y tratamiento [Internet]. Universidad Complutense de Madrid; 2016. Available from: <https://eprints.ucm.es/37258/1/T37110.pdf>
5. Cruz Hernández I, Rubio Ríos G, Torres López M de la C. Enfermedad periodontal inmunoinflamatoria crónica. Municipio Fomento.2010. Gac Médica Espirituana [Internet]. 2013;15(1). Available from: <http://scielo.sld.cu/pdf/gme/v15n1/gme05113.pdf>
6. Colgate. Enfermedad de las encías [Internet]. Available from: <https://www.colgate.com/es-ec/oral-health/conditions/gum-disease>
7. Organización Mundial de la Salud. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023 [Internet]. WB 55. Ginebra: 2013; 2013. 72 p. Available from: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/95008/9789243506098\\_spa.pdf?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/95008/9789243506098_spa.pdf?sequence=1)
8. Torres Chati J, León Quispe J, Tomas Chota G. Actividad antibacteriana y antifúngica de extractos de hojas de Luma chequen (*Molina*) A. Gray “arrayán”

- frente a patógenos de origen clínico. Rev la Soc Venez Microbiol [Internet]. 2017;37:10–6. Available from: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1315-25562017000100004](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562017000100004)
9. Azuero A, Jaramillo Jaramillo C, San Martin D, D'Armas H. Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador. Cienc UNEMI [Internet]. 2016;9(20):11–8. Available from: <http://ojs.unemi.edu.ec/index.php/cienciaunemi/article/view/342/295>
  10. Pesantes Sangay SJ. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de Plantago major (lantén) en diferentes concentraciones sobre Porphyromona gingivalis ATCC 33277 [Internet]. Universidad Nacional de Trujillo; 2018. Available from: [http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/12676/TESIS\\_SANDRA\\_JESSENIA\\_PESANTES\\_SANGAYPROTEJIDO.pdf?sequence=2&isAllowed=y](http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/12676/TESIS_SANDRA_JESSENIA_PESANTES_SANGAYPROTEJIDO.pdf?sequence=2&isAllowed=y)
  11. Regalado Camacho A, Gonzabay Bravo E. Eficacia inhibitoria del aceite esencial Chamomilla y Citrus en Porphyromona gingivalis. Rev Científica “Especialidades Odontológicas UG” [Internet]. 2020;3(2):1–11. Available from: <http://www.revista.eoug.ug.edu.ec/wp-content/uploads/2020/06/REVISION-2-Regalado-Gonzabay.pdf>
  12. Llena Puy C. La saliva en el mantenimiento de la salud oral y como ayuda en el diagnóstico de algunas patologías. Med Oral. 2006;11(5):449–55.
  13. Eley BM, Soory M, Manson JD. Periodoncia. Sexta. Reinoso CM, editor. Barcelona: Elsevier; 2012. 36–56 p.
  14. Cruz Quintana SM, Díaz Sjoström P, Arias Socarrás D, Mazón Baldeón GM. Microbiota de los ecosistemas de la cavidad bucal. Rev Cubana Estomatol [Internet]. 2017;54(1):84–99. Available from: <http://scielo.sld.cu/pdf/est/v54n1/est08117.pdf>
  15. Gaceta Dental. Microflora oral: todo lo que necesita saber [Internet]. 2018. Available from: <https://gacetadental.com/2018/12/microflora-oral-todo-lo-que-necesita-saber-75953/>
  16. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner ACR, Yu WH, et al. The human

- oral microbiome. *J Bacteriol* [Internet]. 2010;192(19):5002–17. Available from: <https://jb.asm.org/content/jb/192/19/5002.full.pdf>
17. Carvajal P. Enfermedades periodontales como un problema de salud pública: el desafío del nivel primario de atención en salud. *Rev Clínica Periodoncia, Implantol y Rehabil Oral* [Internet]. 2016;9(2):177–83. Available from: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/piro/v9n2/art16.pdf>
  18. Pardo Romero FF, Hernández LJ. Enfermedad periodontal: enfoques epidemiológicos para su análisis como problema de salud pública. *Rev Salud Publica* [Internet]. 2018;20(2):258–64. Available from: <https://www.scielo.org/pdf/rsap/2018.v20n2/258-264/es>
  19. Escudero Castaño N, Perea García M, Bascones Martínez A. Revisión de la periodontitis crónica: Evolución y su aplicación clínica. *SciELO* [Internet]. 2008;20(1):27–37. Available from: <http://scielo.isciii.es/pdf/peri/v20n1/original2.pdf>
  20. Álvarez Cortés CL, Jaimes Rico V, Gómez Herrera JC. Prevalencia, severidad y necesidad de tratamiento de la enfermedad periodontal en personal del batallón de artillería de defensa aérea No. 2 Nueva Granada. *Usta Salud* [Internet]. 2013;12:11–9. Available from: <https://pdfs.semanticscholar.org/fe0/3009b409cd751e820c61e8100ae45399bcd1.pdf>
  21. Fuenmayor Fernández V. *Manual de Higiene Bucal*. Alcocer A, editor. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2009. 154 p.
  22. Ubertalli JT. Generalidades sobre enfermedad periodontal [Internet]. *Manual Msd*. 2019 [cited 2020 Aug 30]. Available from: <https://www.msdmanuals.com/es-es/professional/trastornos-odontológicos/enfermedades-periodontales/generalidades-sobre-enfermedad-periodontal>
  23. Pimental Toledo B, Díaz González ME, Alfonso Tarraú MS, Carrillo Pérez A, Rodríguez Linares ML. Tabaquismo y enfermedad periodontal. *Rev Cuba Med Mil* [Internet]. 2002;31(2):94–9. Available from: <http://scielo.sld.cu/pdf/mil/v31n2/mil04202.pdf>

24. Benito B. Enfermedad periodontal y diabetes: una relación recíproca [Internet]. REDGDPS. 2019. Available from: <https://www.redgdps.org/enfermedad-periodontal-y-diabetes-una-relacion-reciproca>
25. Smith P, Retamal I, Cáceres M, Romero A, Silva D, Arancibia R, et al. Diabetes y su impacto en el territorio periodontal. Rev clínica periodoncia, Implantol y Rehabil oral [Internet]. 2012;5(2):90–2. Available from: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/piro/v5n2/art08.pdf>
26. Cuidate Plus. Qué es la fitoterapia [Internet]. 2001. Available from: <https://cuidateplus.marca.com/bienestar/2001/08/23/fitoterapia-8828.html>
27. Bonilla A, Cabrera A. Requerimiento de vitamina C durante el tratamiento de ortodoncia. Acta Odontológica Venez [Internet]. 2010;48(2):1–6. Available from: <https://www.actaodontologica.com/ediciones/2010/2/art-22/>
28. EcuRed. Porphyromonas [Internet]. Available from: <https://www.ecured.cu/Porphyromonas>
29. Guilarte C, Perrone M. Bacterias periodontopatógenas: bacilos anaerobios Gram negativos como agentes etiológicos de la enfermedad periodontal. Acta Odontológica Venez [Internet]. 2005;43(2). Available from: [https://www.actaodontologica.com/ediciones/2005/2/bacterias\\_periodontopatogenas\\_enfermedad\\_periodontal.asp](https://www.actaodontologica.com/ediciones/2005/2/bacterias_periodontopatogenas_enfermedad_periodontal.asp)
30. Orrego Cardozo M, Parra Gil MA, Salgado Morales YP, Muñoz Guarín E, Fandiño Henao V. Porphyromonas gingivalis y enfermedades sistémicas. CES Odontol [Internet]. 2015;28(1):57–73. Available from: <https://revistas.ces.edu.co/index.php/odontologia/article/view/3492/2385>
31. Ramos Perfecto D, Moromi Nakata H, Martínez Cadillo E. Porphyromonas gingivalis: patógeno predominante en la periodontitis crónica. Odontol Sanmarquina [Internet]. 2011;14(1):34–8. Available from: [https://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/odontologia/2011\\_n1/pdf/a11.pdf](https://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/odontologia/2011_n1/pdf/a11.pdf)
32. Díaz Zúñiga J, Yáñez Figueroa J, Melgar Rodríguez S, Álvarez Rivas C, Rojas Lagos C, Vernal Astudillo R. Virulencia y variabilidad de Porphyromonas gingivalis y Aggregatibacter actinomycetemcomitans y su asociación a la periodontitis. Rev clínica periodoncia, Implantol y Rehabil oral [Internet].

- 2012;5(1):40–5. Available from: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/piro/v5n1/art07.pdf>
33. Parra G. Proloterapia y fitoterapia: opciones para el tratamiento de dolor articular [Internet]. Medicina Salud Pública. 2019. Available from: <https://medicinaysaludpublica.com/proloterapia-y-fitoterapia-opciones-para-el-tratamiento-de-dolor-articular/>
  34. Gonzalez Villa AA. Obtención de aceites esenciales y extractos etanolicos de plantas del Amazonas [Internet]. Universidad Nacional de Colombia; 2004. Available from: <http://www.bdigital.unal.edu.co/1173/1/angelaandreagonzalezvilla.2004.pdf>
  35. Lucuy Mamallacta LA. Estudio Farmacognóstico Y Actividad Cicatrizante Del Jatun Quilun Quilun [Internet]. Escuela Superior Ppolitécnica de Chimborazo; 2013. Available from: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2561/1/56T00328.pdf>
  36. Rodriguez Y, Vera L, Moreno K, Mantilla J, Guevara C, González R. Conocimiento sobre el uso del Plantago-mayor como terapia alternativa en lesiones inflamatorias bucales. Rev Venez Investig odontológica [Internet]. 2014;2(2):106–15. Available from: [https://pdfs.semanticscholar.org/a9c4/eabf8dff9d904e67a78293cf4ef064964851.pdf?\\_ga=2.67853267.399301266.1598819297-1276759864.1598659425](https://pdfs.semanticscholar.org/a9c4/eabf8dff9d904e67a78293cf4ef064964851.pdf?_ga=2.67853267.399301266.1598819297-1276759864.1598659425)
  37. Miguel López VM, Rojas Gonzales ND. Plantas medicinales utilizadas para afecciones en estomatología en los consultorios dentales del distrito de Huancayo [Internet]. Universidad Privada de Huancayo“Franklin Roosevelt”; 2016. Available from: [http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/10/915636/plantas-medicinales-utilizadas-para-afecciones-en-estomatologia\\_naE8FSZ.pdf](http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/10/915636/plantas-medicinales-utilizadas-para-afecciones-en-estomatologia_naE8FSZ.pdf)
  38. Redrobán Vargas KF. Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de berro (*Nasturtium officinale*) y llantén (*plantago mayor*) en ratones (*Mus musculus*) [Internet]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2012. Available from: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2021/1/56T00316.pdf>
  39. del Valle-Pérez L, Macías Abraham C, Socarrás Ferrer BB, Marsán Suárez V,

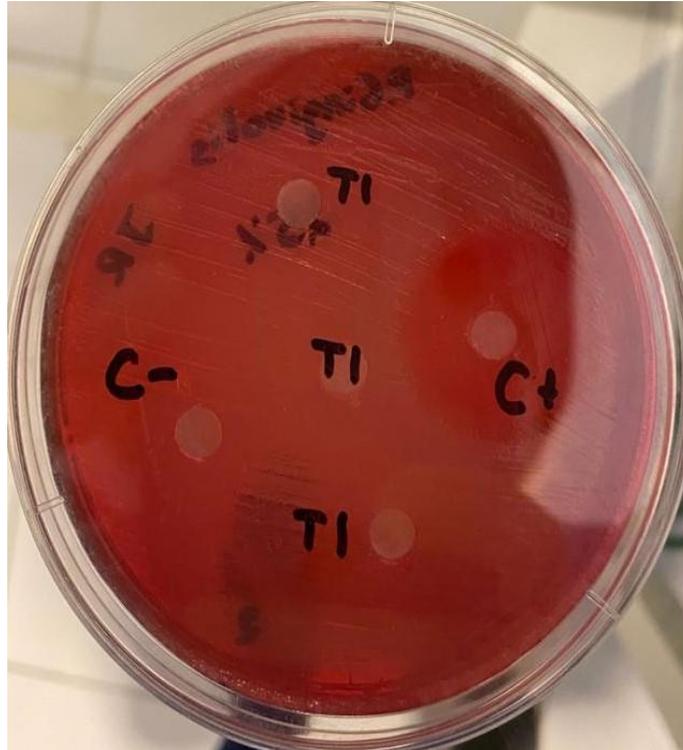
- Sánchez Segura M, Palma Salgado L, et al. Efecto in vitro de la *Matricaria recutita* L. sobre la respuesta de linfocitos y neutrófilos. *Rev Cuba Hematol Inmunol y Hemoter* [Internet]. 2012;28(2):177–84. Available from: <http://scielo.sld.cu/pdf/hih/v28n2/hih08212.pdf>
40. González Chila VO. Efecto antimicrobiano de la infusión de manzanilla sobre el *Actinomyces odontolyticus* y el *Actinomyces viscosus*: estudio in vitro. [Internet]. Universidad Central del Ecuador; 2016. Available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/5702/1/T-UCE-0015-254.pdf>
  41. Vara Delgado A, Sosa González R, Alayón Recio CS, Ayala Sotolongo N, Moreno Capote G, Alayón Recio V del C. Uso de la manzanilla en el tratamiento de las enfermedades periodontales. *Rev Arch médico Camaguey* [Internet]. 2019;23(3):403–14. Available from: <http://scielo.sld.cu/pdf/amc/v23n3/1025-0255-amc-23-03-403.pdf>
  42. Ortiz Erazo RD. Eficacia del colutorio de clorhexidina 0.12 % sin alcohol en el tratamiento de gingivitis asociada a placa dentobacteriana en pacientes de 18 a 25 años de edad que asisten a la Clínica Odontológica de la Universidad Nacional de Loja en el periodo octubre [Internet]. Universidad Nacional de Loja; 2018. Available from: [https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/21399/1/TESIS\\_RUDY\\_ORTIZ.pdf](https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/21399/1/TESIS_RUDY_ORTIZ.pdf)
  43. Encalada Abad CE. Efectividad del hipoclorito de sodio y clorhexidina contra la formación de placa bacteriana e inflamación gingival en la Brigada de Artillería Portete Cuenca Ecuador 2015 [Internet]. Universidad San Martín de Porres; 2015. Available from: <http://repositorio.usmp.edu.pe/handle/20.500.12727/3272>
  44. Panez Beraún A. Actividad antimicrobiana de la clorhexidina al 0.12% frente al *Streptococcus mutans* en saliva, luego del uso de una pasta dental que contenga Lauril Sulfato de Sodio [Internet]. Universidad Nacional Federico Villareal; 2009. Available from: <http://www.cop.org.pe/bib/tesis/ALCIDESPANEZBERAUN.pdf>
  45. Rueda Jácome MF. Estudio comparativo in vitro del efecto antibacteriano del extracto de Propóleo Ecuatoriano vs Gluconato de clorhexidina contra

- Streptococcus mutans* [Internet]. Universidad Central de Ecuador; 2015. Available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/4573/1/T-UCE-0015-154.pdf>
46. Bascones A, Morante S. Antisépticos orales. Revisión de la literatura y perspectiva actual. *SciELO* [Internet]. 2006;18(1):31–59. Available from: <http://scielo.isciii.es/pdf/peri/v18n1/original3.pdf>
  47. Parra S. La clorhexidina: ¿el mejor enjuague bucal? [Internet]. *Muy Saludable*. 2016. Available from: <https://muysaludable.sanitas.es/salud/dental/la-clorhexidina-el-mejor-enjuague-bucal/#:~:text=El uso de clorhexidina&text=Suele utilizarse para el tratamiento,lesiones de la mucosa bucal.>
  48. Morillo Catillo JA, Balseca Ibarra MC. Eficacia inhibitoria del aceite esencial de *Cymbopogon citrus* sobre cepas de *Porphyromona gingivalis*: Estudio in vitro. *Rev “Odontología”* [Internet]. 2018;20(2):5–13. Available from: <http://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/odontologia/article/view/1470/1425>
  49. Rueda Moreira SS. Inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis*, con 4 antisépticos orales: clorhexidina 0.12%, aceites esenciales, perborato de sodio 78,7g y cloruro de cetilpiridinio [Internet]. Universidad Central de Ecuador; 2017. Available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/9248/1/T-UCE-0015-538.pdf>
  50. Pimentel Ramirez E, Castillo Andamayo D, Quintana Del Solar M, Maurtua Torres D, Villegas Vílchez L, Díaz Santisteban C. Efecto antibacteriano de extractos etanólicos de plantas utilizadas en la tradiciones culinarias andinas sobre microorganismos de la cavidad bucal. *Rev Estomatológica Hered* [Internet]. 2015;25(3):268–77. Available from: <http://www.scielo.org.pe/pdf/reh/v25n4/a04v25n4.pdf>
  51. Chamorro Benalcázar L, Cabrera Árias MA, Ibarra Balseca MC. Efecto antibacteriano del extracto etanólico del botoncillo sobre *Porphyromona gingivalis*: Estudio in Vitro. *Rev “Odontología”* [Internet]. 2016;18(1):20–5. Available from: <http://www.scielo.org.pe/pdf/reh/v25n4/a04v25n4.pdf>

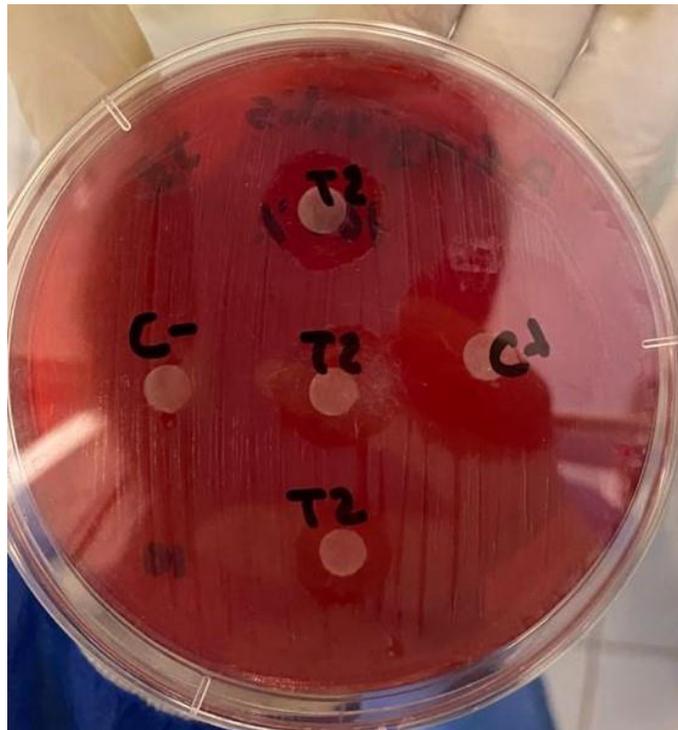
## 12. ANEXOS

### ANEXO 1. Resultados de los Tratamientos

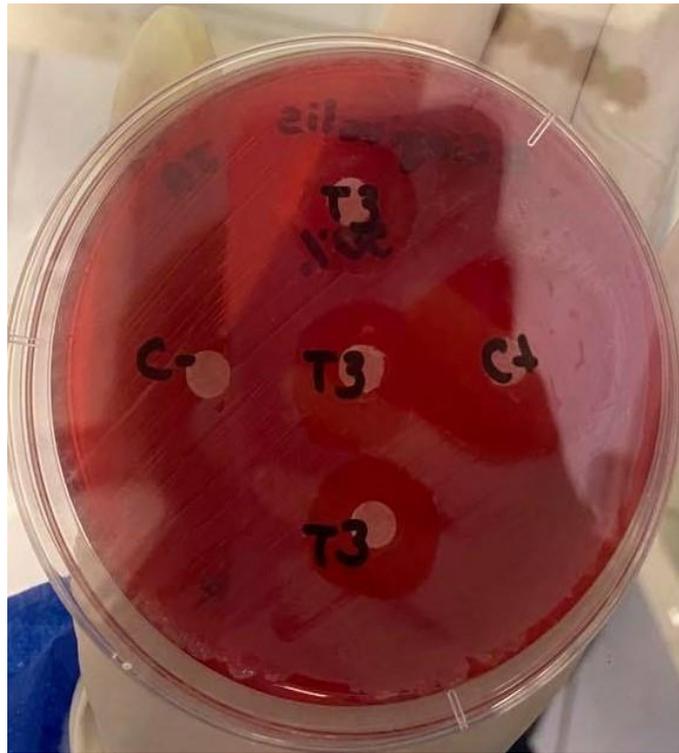
*Fotografía Nro. 1* Resultados Tratamiento 1 (25%)



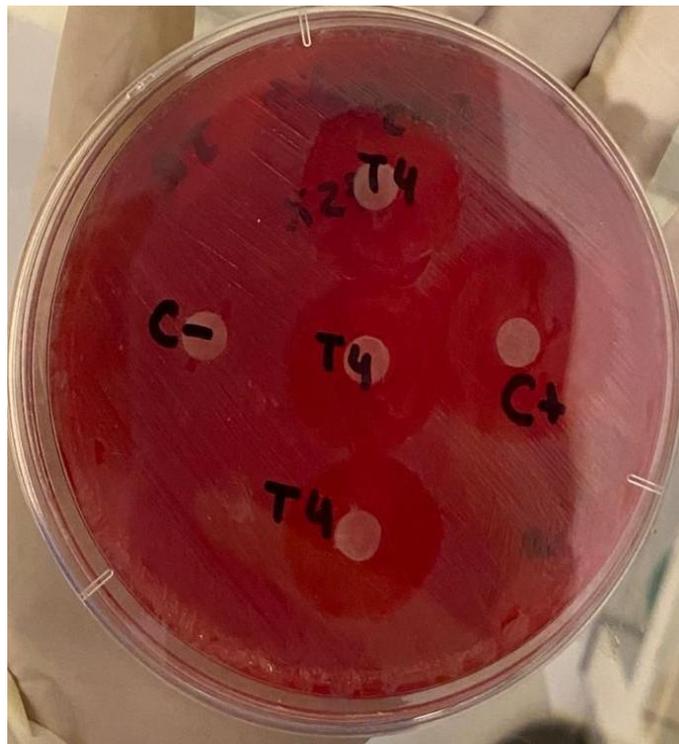
*Fotografía Nro. 2* Resultados Tratamiento 2 (50%)



**Fotografía Nro. 3** Resultados Tratamiento 3 (75%)



**Fotografía Nro. 4** Resultados Tratamiento 4 (100%)



## ANEXO 2. Certificado por parte del Laboratorio



Quito 24/08/2020

### CERTIFICADO

El laboratorio Bacterial and Microbiology in Med certifica que se realizó el estudio in vitro denominado "Efecto antimicrobiano de la mezcla del extracto de llantén y manzanilla comparado con clorhexidina en cepas de *Porphyromona gingivalis*" de autoría de la Srta. Jessica Consuelo Rosero Guerrero con CI: 1719922054 el cual fue realizado bajo las condiciones técnicas y científicas que se detallan a continuación: Estufas calibradas a 37°C, Cámara de Anaerobiosis, espectrofotómetro calibrado 0% de absorbancia, Cámara de CO2 y ratificamos la completa veracidad de los siguientes resultados

Más información en nuestra página web: [www.bmilaboratorios.com](http://www.bmilaboratorios.com)

Un placer estar en contacto y poder ampliar la información adjunta.

Atentamente,,



Jeffer Alexander Cisneros Guerrero  
Administración BMI  
Dirección: Humberto Marín OE2-32 y Luis García (La Kennedy)  
Contacto: (02) 2410 012 - 0984434447 - 0998650006  
E-mail: [bmilaboratorios@outlook.com](mailto:bmilaboratorios@outlook.com) - [www.bmilaboratorios.com](http://www.bmilaboratorios.com)  
Quito-Ecuador



Lic. JEFFER CISNEROS  
MSP: 0401601190  
SENECYT: 1005201689510

**ANEXO 3. Resultados del Laboratorio**



BACTERIAL AND MICROBIOLOGY IN MED

**BMI Laboratorios**

EXÁMENES: CLÍNICOS - HORMONALES - MICROBIOLÓGICOS - HISTOPATOLÓGICOS - TOXICOLÓGICOS



711230001

AUTORIA	Jessica Consuelo Rosero Guerrero		FECHA:	20/08/2020
CODIGO LABORATORIO: 200801	TEMA:			
"EFECTO ANTIMICROBIANO DE LA MEZCLA DEL EXTRACTO DE LLANTÉN Y MANZANILLA				
COMPARADO CON CLORHEXIDINA EN CEPAS DE Porphyromona gingivalis"				
CLORHEXIDINA 0,12% (CONTROL +)			AGUA DESTILADA (CONTROL -)	
ANTIBIOTICO 1	EXTRACTO DE LLANTÉN Y MANZANILLA	CEPA ESTUDIO	PORPHYROMONA GINGIVALIS ATCC 33270	

EXTRACTO DE LLANTÉN Y MANZANILLA				CONTROL POSITIVO		CONTROL NEGATIVO	
48 HORAS	48 HORAS	48 HORAS	48 HORAS	48 HORAS	H2O	48 HORAS	CLORHEXIDINA 0,12%
25%	50%	75%	100%				

1	7	12	19	25	26	ACEPTABLE	6	ACEPTABLE
2	7	13	18	24	25	ACEPTABLE	6	ACEPTABLE
3	6	12	19	25	26	ACEPTABLE	6	ACEPTABLE
4	7	11	19	24	26	ACEPTABLE	6	ACEPTABLE
5	6	11	17	26	26	ACEPTABLE	6	ACEPTABLE
6	6	11	19	25	26	ACEPTABLE	6	ACEPTABLE
7	6	11	19	25	26	ACEPTABLE	6	ACEPTABLE
8	6	12	19	25	26	ACEPTABLE	6	ACEPTABLE
9	6	12	18	26	26	ACEPTABLE	6	ACEPTABLE

Firma responsable  
 Lic. Jeffer Cisneros  
 LABORATORIO BMI  
**Lic. JEFFER CISNEROS**  
 MSP: 0401601190  
 SENECYT: 1005201689510

## ANEXO 4. Permiso de funcionamiento de Laboratorio

	Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria	
<b>AGENCIA NACIONAL DE REGULACIÓN, CONTROL Y VIGILANCIA SANITARIA - ARCSA</b>		
<b>PERMISO DE FUNCIONAMIENTO: ARCSA-2019-3.2.4-0000001</b>		
Nombre o Razón Social del establecimiento: CISNEROS GUERRERO JEFFER ALEXANDER		
Nombre del Propietario o Representante Legal: CISNEROS GUERRERO JEFFER ALEXANDER		
Número del RUC del establecimiento: 0401601190001 Establecimiento N°: 2		
Provincia: PICHINCHA		
Cantón: QUITO		
Parroquia: KENNEDY		
Sector/Referencia: KENNEDY		
Dirección: CALLE: HUMBERTO MARIN NUMERO: OE2-32 INTERSECCION: LUIS GARCIA		
Actividades / Tipo(s) de establecimiento(s):		
* 3.2.4 LABORATORIO FABRICANTE DE REACTIVOS BIOQUIMICOS DE DIAGNOSTICO IN VITRO PARA USO HUMANO Y DISPOSITIVOS MEDICOS MICROEMPRESA. Riesgo: Alto		
Fecha de Emisión: 07-01-2019		
Fecha de Vigencia: 07-01-2020		
Total pago: 0.00		
<b>Estado: VIGENTE</b>		
		
<b>Dra. Hemplen Lorena Zambrano Sáenz de Viteri</b> <b>Coordinadora General Técnica de Certificaciones - ARCSA</b>		
	Nota: Las condiciones en la cual se emitió el Permiso de Funcionamiento, son verificables en cualquier momento por la Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria.	

# ANEXO 5. Calibración de las máquinas del Laboratorio

	<b>FORMATO REPORTE DE ATENCIÓN</b>		EQUIPO: <input type="checkbox"/> MANTENIMIENTO EQUIPO: <input type="checkbox"/> EQUIPO TECNICO GARANTIA: <input type="checkbox"/> GARANTIA GENERAL CALIBRACION: <input type="checkbox"/> CALIBRACION VERIFICACION: <input type="checkbox"/> VERIFICACION	
	<b>REPORTE DE ATENCIÓN Q Nº 0027496</b>			
	FACTURACIÓN <input type="checkbox"/> GARANTIA <input type="checkbox"/> INSTALACIÓN <input type="checkbox"/> COMODATO <input type="checkbox"/> COTIZACIÓN <input type="checkbox"/>			
	<b>DETALLE DE ATENCIÓN AL CLIENTE</b>			
RECEPCIÓN DE SOLICITUD FECHA: _____ HORA: _____		TÉRMINO DE ATENCIÓN FECHA: <u>22/08/2020</u>		
INICIO DE ATENCIÓN FECHA: <u>22/08/2020</u> HORA: _____		TIEMPO EMPLEADO HORA: _____		
CLIENTE Institución: <u>Infinitymed</u> Contacto: <u>Jefferson Cárdenas</u> Dirección: <u>Av. Luis Tulaño De 3-55</u> Telefax: _____ Ciudad: <u>Quito - Ecuador</u>		EQUIPO Aplica validación con materiales de referencia: SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> Descripción: <u>EQUIPO INMUNOLOGIA (ELISA)</u> Marca: <u>Mindray</u> Modelo: <u>MR-96A</u> Serie: _____		
Solicitud / Defecto / Reclamo <u>Revisión, Mantenimiento Correctivo/Preventivo</u> <u>Calibración</u>				
TRABAJO EFECTUADO <u>Revisión de funcionamiento</u> <u>Revisión lámpara Espetrofotómetro</u> <u>Calibración Pruebas</u> <u>Corrida de Controles</u>				
REPUESTOS: <input type="checkbox"/> COTIZAR <input type="checkbox"/> FACTURAR <input type="checkbox"/> APOYO TECNOLÓGICO <input type="checkbox"/>				
CÓDIGO	CANT.	DESCRIPCIÓN	P. UNIT.	P. TOTAL
TOTAL A FACTURAR SIN INCLUIR EL I.V.A.				
US. \$				
OBSERVACIONES:				
EQUIPO OPERA CORRECTAMENTE <span style="float: right;">SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/></span>				
GARANTÍA DE SERVICIO TÉCNICO 30 días tanto para los servicios ejecutados como para cualquier defecto de fabricación de las piezas cambiadas. Esta garantía no cubre defectos de manipulación y/o utilización por parte del cliente.		DECLARAMOS QUE LOS TRABAJOS ARRIBA ESPECIFICADOS HAN SIDO REALIZADOS POR EL SERVICIO TÉCNICO DE MEDILABOR S.A.		
<input type="checkbox"/> Reporte realizado encuesta _____ FIRMA		NOMBRE Y FIRMA  TÉCNICO	NOMBRE Y FIRMA CLIENTE	
<input type="checkbox"/> Reporte aprobado _____ FIRMA				
Quito: Calle Parasoa OE-5-468 y El Eden-Sector Pusaqui - PBX 023430753 Telfs: 3430-753 / 3430-833 / 3431-322 / 1800633452 Email: oficinaquito@medilaborsasa.com		Guayaquil: Av. Francisco de Orellana C.C. La Gran Manzana Local 88-90 Telfs: 045065388 / 045065367 - E-mail: oficinaguaya@medilaborsasa.com		
www.medilaborsasa.com				





