



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE ODONTOLOGÍA**

Efecto antimicrobiano de plantas medicinales del Páramo Andino de
Chimborazo en microorganismos orales. Estudio *in vitro*

Trabajo de Titulación para optar al título de Odontólogo

Autores:

Haro Chango Alisson Elizabeth
Riera Sinchiguano Tatiana Mishell

Tutor:

Dr. Manuel Alejandro León Velasteguí

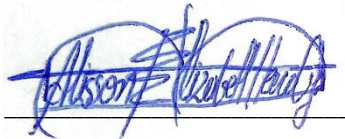
Riobamba, Ecuador. 2025

DECLARATORIA DE AUTORÍA

Nosotras, Alisson Elizabeth Haro Chango y Tatiana Mishell Riera Sinchiguano con cédula de ciudadanía 1805347414 y 1719346288 respectivamente, autoras del trabajo de investigación titulado: Efecto antimicrobiano de plantas medicinales del Páramo Andino de Chimborazo en microorganismos orales Estudio *in vitro*, certificamos que la producción, ideas, opiniones, criterios, contenidos y conclusiones expuestas son de nuestra exclusiva responsabilidad.

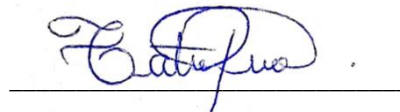
Asimismo, cedemos a la Universidad Nacional de Chimborazo, en forma no exclusiva, los derechos para su uso, comunicación pública, distribución, divulgación y/o reproducción total o parcial, por medio físico o digital; en esta cesión se entiende que el cesionario no podrá obtener beneficios económicos. La posible reclamación de terceros respecto de los derechos de autor (a) de la obra referida, será de mi entera responsabilidad; librando a la Universidad Nacional de Chimborazo de posibles obligaciones.

En Riobamba, 19 de febrero del 2026.



Alisson Elizabeth Haro Chango

C.I: 1805347414



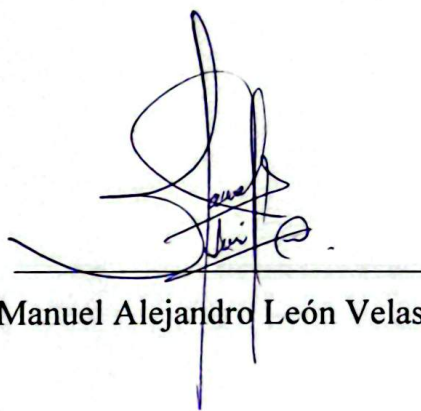
Tatiana Mishell Riera Sinchiguano

C.I: 1719346288

DICTAMEN FAVORABLE DEL PROFESOR TUTOR

Quien suscribe, Manuel Alejandro León Velasteguí catedrático adscrito a la Facultad de Ciencias de la Salud, por medio del presente documento certifico haber asesorado y revisado el desarrollo del trabajo de investigación titulado: Efecto antimicrobiano de plantas medicinales del Páramo Andino de Chimborazo en microorganismos orales. Estudio *in vitro*, bajo la autoría de Alisson Elizabeth Haro Chango y Tatiana Mishell Riera Sinchiguano; por lo que se autoriza ejecutar los trámites legales para su sustentación.

Es todo cuanto informar en honor a la verdad; en Riobamba, a los 27 días del mes de abril de 2026

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Manuel Alejandro León Velasteguí', is written over a horizontal line. The signature is stylized and somewhat illegible due to its cursive nature.

Dr. Manuel Alejandro León Velasteguí

CERTIFICADO DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL

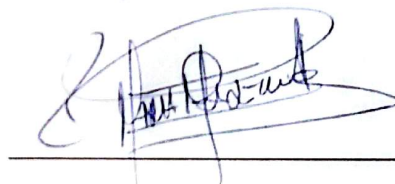
Quienes suscribimos, catedráticos designados Miembros del Tribunal de Grado para la evaluación del trabajo de investigación Efecto antimicrobiano de plantas medicinales del Páramo Andino de Chimborazo en microorganismos orales. Estudio *in vitro* por Alisson Elizabeth Haro Chango y Tatiana Mishell Riera Sinchiguano, con cédulas de identidad números 1805347414 y 1719346288, bajo la tutoría de Dr. Manuel Alejandro León Velasteguí; certificamos que recomendamos la APROBACIÓN de este con fines de titulación. Previamente se ha evaluado el trabajo de investigación y escuchada la sustentación por parte de su autor; no teniendo más nada que observar.

De conformidad a la normativa aplicable firmamos, en Riobamba 13 de mayo de 2026.

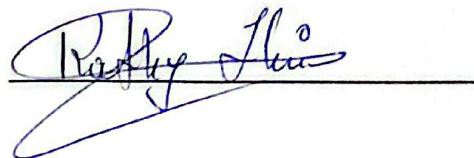
Dr. Xavier Guillermo Salazar Martínez
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE GRADO



Dra. María Mercedes Calderón Paz
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO



Dra. Kathy Marilou Llori Otero
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO





CERTIFICACIÓN

Que, **HARO CHANGO ALISSON ELIZABETH Y RIERA SINCHIGUANO TATIANA MISHHELL** con CC: **1805347414 Y 1719346288** respectivamente, estudiante de la Carrera de **ODONTOLOGÍA**, Facultad de **CIENCIAS DE LA SALUD**; ha trabajado bajo mi tutoría el trabajo de investigación titulado " **EFECTO ANTIMICROBIANO DE PLANTAS MEDICINALES DEL PÁRAMO ANDINO DE CHIMBORAZO EN MICROORGANISMOS ORALES. ESTUDIO IN VITRO**", cumple con el 10 %, de acuerdo con el reporte del sistema Anti-plagio **COMPILOT**, porcentaje aceptado de acuerdo con la reglamentación institucional, por consiguiente, autorizo continuar con el proceso.

Riobamba, 18 de febrero de 2026.

Dr. Manuel Alejandro León Velastegui
TUTOR

DEDICATORIA

Dedico este trabajo primero a Dios, por guiar cada uno de mis pasos le agradezco infinitamente por darme la fortaleza para continuar, por escuchar mis silencios y por bendecirme con una familia tan maravillosa.

A mi mamita, Mercedes, mi querida “Mechita”. Gracias por estar a mi lado en cada desvelo, por cada palabra suave que calmó mis miedos y por sostenerme cuando sentía que ya no podía más. Gracias por secar mis lágrimas, incluso en mis momentos más frágiles, y por abrazarme con esa fuerza que solo una madre sabe dar. Has sido el corazón que ha latido junto al mío en cada paso de este camino, el alma que sostuvo mi mundo cuando todo parecía tambalear. Esta meta es de ambas porque en cada logro está tu sacrificio, tu ternura infinita y tu amor incondicional. Sin ti, nada de esto habría sido posible

A mi papito, Marcelo, gracias por ser mi ejemplo silencioso de fortaleza y rectitud. Me enseñó, sin discursos largos, que el trabajo honesto dignifica, que la constancia construye sueños y que la humildad engrandece el corazón. Sus charlas oportunas, su apoyo firme y su paciencia infinita fueron mi refugio cuando dudaba de mí misma. En cada paso que di sentí su confianza sosteniéndome, recordándome que el esfuerzo siempre tiene recompensa. Este logro es nuestro, porque en mí vive todo lo que sembraste con amor y dedicación.

A mis hermanos, Nicolás y Diego, con quienes tengo el privilegio de compartir no solo un apellido, sino también una amistad profunda y sincera. Gracias por cada noche de risas, por los enojos pasajeros, por los desvelos compartidos y por esas complicidades que solo nosotros entendemos. Agradezco su presencia constante, sus chistes malos que aligeraron los días difíciles, sus palabras y mensajes de ánimo en los momentos de duda, y sobre todo, su amor incondicional. Han sido mi impulso y mi motivación, ese empujón necesario que me recordó que sí podía lograrlo. Esta etapa universitaria que ya mismo termina para los tres nos dejó más lágrimas que risas, pero también nos hizo más fuertes y más unidos.

A mis abuelitos, con todo mi corazón. A Mameya, Papucho y Luchito, gracias por ser raíces firmes y amorosas en mi vida, por siempre tener sus brazos abiertos, por compartir sus enseñanzas, sabios consejos y por decir más de una vez “nunca te rindas”. Y a mi querida abuelita Marujita, que hoy me cuida desde el cielo, gracias por tu amor eterno y por seguir presente en mi corazón. Sé que celebras este logro conmigo, con el mismo orgullo y ternura de siempre.

A toda mi familia, por parte de mi mami y de mi papi. Gracias por cada palabra de aliento, por los abrazos cálidos, las alegrías compartidas y por todo el apoyo brindado.

A mi mejor amigo Alex por siempre estar y nunca dejarme sola, por demostrarme con hechos que la amistad si existe y por ser más que amigo un hermano que la vida me regalo.

Sin todos ustedes a mi lado no sería posible estar hoy aquí, gracias por ser mi hogar, mi lugar seguro, mi motor y mi mayor bendición.

Con amor, Alisson Elizabeth Haro Chango

DEDICATORIA

En este espacio tan especial, quiero expresar toda mi gratitud a las personas que estuvieron presentes a lo largo de este arduo, desafiante y profundamente enriquecedor camino, marcado por experiencias divertidas, nostálgicas y mucho aprendizaje, que me impulsaron a cumplir mi objetivo: obtener mi título universitario.

A Dios, mi rayito de sol en medio del frío, mi refugio y mi dirección, en quien me apoyé en mis días grises y lluviosos, llenos de dudas y miedos. Aquel que me sostuvo y me guió con amor para seguir caminando y no rendirme. Y aunque mi camino en ocasiones fue rocoso, pude dar cada paso gracias a Él con firmeza y confianza.

A mi papi, Byron, de quien tengo el honor de llevar su apellido, su valentía, sus ganas de salir adelante, su inteligencia y sus ojos. Gracias por hacer que mi camino fuese más sencillo, lleno de amor y lealtad. Y, sobre todo, gracias por su apoyo incondicional desde el primer paso que di y por confiar en mí y en todo lo que era capaz de lograr.

A mi mamita, Olimpia, de quien tengo el honor de llevar su resiliencia, su noble corazón, su creatividad y su linda e interesante forma de ver la vida. Gracias por acompañarme en este proceso; solo usted y yo sabemos cuánto significa llegar hasta aquí. Gracias por las risas compartidas, las lágrimas vividas y los abrazos de felicidad por cada cosa que salió como Dios quiso.

A mis hermanos, Mauricio, David, Alexander y Fernandito. Gracias, hermano mayor, por estar desde siempre a mi lado y por confiar en mí y en mis capacidades. A mis pequeñitos, Davo y Ale, gracias por compartir conmigo su alma de niños, sus risas y sus juegos; por cuidarme y amarme. Siempre serán mi motivo de inspiración para mejorar y darlo todo. A Fernandito, gracias por emocionarte siempre con mis llegadas y alegrar mis noches con tus saluditos a la distancia.

A toda mi familia, por parte de mi mami y de mi papi. Gracias por cada palabra de aliento, por los abrazos cálidos, las alegrías compartidas y por estar siempre presentes, cuidándome y preocupándose por mí.

A mis amigos: Fer, Zoe, Dianita y Steveen, gracias por demostrarme a diario que puedo confiar en ustedes. Gracias por hacer más llevadero cada paso de aprendizaje académico con su compañía, apoyo y lealtad; por ofrecerme su hombro para descansar y desahogarme cuando lo necesité. Gracias por caminar a mi lado; gracias a ustedes también lo logré. Y a todas las buenas personas que llegaron a mi vida durante este viaje de varios años, gracias por todo.

Con cariño, Tatiana Mishell Riera Sinchiguano.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos profundamente a Dios por su guía divina y fortaleza durante todo este proceso de investigación.

Expresamos nuestra más sincera gratitud a nuestro tutor de tesis, el Dr. Manuel León, por su valiosa orientación académica, paciencia y confianza depositada en nuestro trabajo; al Dr. Carlos Espinoza, por su expertise técnico en microbiología que enriqueció significativamente las pruebas in vitro y el análisis de resultados contra *Candida albicans*.

Reconocemos el aporte invaluable de las comunidades del Páramo Andino de Chimborazo por compartir su sabiduría etnobotánica tradicional, esencial para la identificación de las especies medicinales estudiadas.

A nuestros amigos y docentes de la Universidad Nacional de Chimborazo, gracias por las discusiones científicas, colaboración en las pruebas in vitro y el ambiente de camaradería que hizo posible este estudio.

Finalmente, a la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Chimborazo por facilitar los recursos materiales para este proyecto sobre plantas medicinales contra *Candida albicans*.

Este logro es el fruto colectivo de todos ustedes.

*Alisson Elizabeth Haro Chango
Tatiana Mishell Riera Sinchiguano.*

ÍNDICE GENERAL;

1.	CAPÍTULO I. INTRODUCCION.....	15
1.1	OBJETIVOS	18
1.1.1	Objetivo General	18
1.1.2	Objetivos Específicos.....	18
2.	CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	19
2.1	Plantas medicinales.....	19
2.1.1	Plantas medicinales del Páramo Andino	19
2.1.2	Biodiversidad de la flora en el Ecuador	19
2.1.3	Usos ancestrales de plantas medicinales	20
2.1.4	Importancia de las plantas en medicina.....	20
2.1.5	Plantas con potencial actividad antimicrobiana en Ecuador	21
2.1.6	Aceites esenciales y su relevancia en odontología.....	21
2.1.7	Aceites Esenciales	26
2.1.7.1	Aceite esencial de Sauce negro (<i>Salix nigra</i>)	26
2.1.7.2	Aceite esencial de Cepillo (<i>Callistemon citrinus</i>)	26
2.1.7.3	Aceite esencial de Orégano (<i>Plectranthus amboinicus</i>)	26
2.1.7.4	Aceite esencial de Menta (<i>Mentha piperita L</i>)	27
2.1.8	Mecanismos antifúngicos de los aceites esenciales	27
2.2	Hongos patógenos.....	27
2.2.1	<i>Candida</i>	27
2.2.2	Candidiasis oral.....	28
2.2.3	Epidemiología de la candidiasis oral.....	28
2.2.4	Manifestaciones clínicas	29
2.2.5	Biofilm de <i>Candida albicans</i> y su importancia clínica.....	29
2.2.6	Tratamiento farmacológico de la candidiasis oral.....	29
3.	CAPÍTULO III. METODOLOGIA.....	31

3.1	Tipo de investigación.....	31
3.2	Nivel o alcance de investigación.....	31
3.3	Enfoque.....	31
3.4	Diseño.....	32
3.5	Población.....	32
3.6	Muestra.....	32
3.7	Técnica.....	32
3.8	Instrumento.....	33
4.	CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	34
4.1	RESULTADOS.....	34
4.1.1	Proceso de Maceración y Preparación de Extractos.....	34
4.1.2	Resultados Halos de inhibición. Registro fotográfico.....	36
4.1.3	Análisis de resultados.....	38
4.2	DISCUSIÓN.....	43
5.	CAPÍTULO V. CONCLUSIONES y RECOMENDACIONES.....	47
5.1	CONCLUSIONES.....	47
5.2	RECOMENDACIONES.....	48
6.	BIBLIOGRAFÍA.....	49
7.	ANEXOS.....	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Proceso de Maceración y Preparación de Extractos.	34
Tabla 2. Plantas utilizadas, muestra, método de siembra, halo de inhibición (mm) según el tipo de planta y controles evaluados.....	38
Tabla 3. Estadísticos descriptivos (media, desviación estándar e intervalo de confianza) del halo de inhibición (mm) según el tipo de planta y controles evaluados.....	39
Tabla 4. Pruebas de normalidad del halo de inhibición (mm) según los tipos de plantas y controles.....	39
Tabla 5. Comparaciones múltiples del halo de inhibición (mm) entre los tipos de plantas y controles mediante la prueba HSD de Tukey	40
Tabla 6. Tabla de halos de inhibición sensibilidad del sauce negro al 25% con método de disco.....	53
Tabla 7. Tabla de resultados de sensibilidad del sauce negro al 50% con método de disco.	53
Tabla 8. Tabla de resultados de sensibilidad de aceite esencial de menta al 100% con método de disco.....	53
Tabla 9. Tabla de resultados de sensibilidad del aceite esencial de cepillo al 100% con método de disco.....	53
Tabla 10. Tabla de resultados de sensibilidad del extracto del orégano al 100% con método de disco.....	54
Tabla 11. Tabla de resultados de sensibilidad del fluconazol primera muestra.	54

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Planta de Sauce Negro.....	22
Ilustración 2. Planta de Cepillo.....	23
Ilustración 3. Planta de Orégano.....	24
Ilustración 4. Planta de Menta	25
Ilustración 5. Resultado Sauce Negro.....	36
Ilustración 6. Resultado Cepillo	36
Ilustración 7. Resultado Orégano	37
Ilustración 8. Resultado Menta.....	37

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la actividad antifúngica *in vitro* de extractos hidroalcohólicos de Sauce negro (*Salix nigra*) y Orégano (*Plectranthus amboinicus*), así como de aceites esenciales de Cepillo (*Callistemon citrinus*) y Menta (*Mentha piperita L*) frente a cepas de *Candida albicans* (ATCC 10231).

La metodología consistió en una investigación cuasiexperimental, descriptiva y cuantitativa, habiéndose preparado extractos hidroalcohólicos por maceración a concentraciones aplicados sobre cultivos de *Candida albicans* en cajas Petri por medio del método de difusión en agar tipo Mueller Hinton (MHA), con siembra uniforme e incubación a 37°C por 48 horas para posteriormente medir halos de inhibición en milímetros, aplicando también comparaciones con controles positivos (fluconazol y nistatina) y negativos. Se realizaron análisis estadísticos descriptivos (media, desviación estándar, intervalo de confianza) y pruebas inferenciales (Shapiro-Wilk para normalidad, ANOVA unifactorial y HSD de Tukey para comparaciones múltiples, con significancia $p < 0,05$) demostrando que el estudio es significativamente relevante y de interés investigativo.

Los resultados mostraron que los extractos de las plantas como menta (*Mentha piperita L*) y cepillo (*Callistemon citrinus*) presentaron mayores halos de inhibición con medias de 32-35 mm a 50%, superiores a 30 mm mostrando una actividad antifúngica significativa frente a *C. albicans* ($p < 0,001$ vs. controles negativos), mientras que los extractos de sauce negro y orégano mostraron efectos moderados de 15-25 mm; las concentraciones más altas potenciaron la inhibición en todas las especies. La comparación entre plantas demostró que existe una superioridad entre los extractos de las plantas menta y cepillo sobre las demás, validando su potencial etnobotánico como alternativas naturales a antifúngicos convencionales ante resistencias emergentes.

Palabras claves: *Plantas medicinales/Páramo Andino/Candida albicans/Actividad antifúngica/Extractos hidroalcohólicos.*

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the *in vitro* antifungal activity of hydroalcoholic extracts of black willow (*Salix nigra*) and oregano (*Plectranthus amboinicus*), as well as essential oils of lemon myrtle (*Callistemon citrinus*) and peppermint (*Mentha piperita L*) against strains of *Candida albicans* (ATCC 10231). The methodology consisted of a quasi-experimental, descriptive, and quantitative study. Hydroalcoholic extracts were prepared by maceration at various concentrations and applied to *Candida albicans* cultures in Petri dishes using the Mueller-Hinton agar (MHA) diffusion method, with uniform seeding and incubation at 37°C for 48 hours, followed by measurement of inhibition zones in millimeters, and comparisons with positive (*fluconazole and nystatin*) and negative controls. Descriptive statistical analyses (mean, standard deviation, confidence interval) and inferential tests (Shapiro-Wilk for normality, one-way ANOVA, and Tukey's HSD for multiple comparisons, with significance at $p < 0.05$) were performed, demonstrating that the study is statistically significant and of research interest. The results showed that extracts from plants such as peppermint (*Mentha piperita L*) and lemon myrtle (*Callistemon citrinus*) exhibited larger inhibition zones with means of 32–35 mm at 50% concentration, exceeding 30 mm and demonstrating significant antifungal activity against *C. albicans* ($p < 0.001$ vs. negative controls). While black willow and oregano extracts showed moderate effects of 15–25 mm; higher concentrations enhanced inhibition in all species. The comparison among plants demonstrated that extracts from peppermint and lemon myrtle are superior to the others, validating their ethnobotanical potential as natural alternatives to conventional antifungals in the face of emerging resistance.

Keywords: *Medicinal plants/Andean Páramo/Candida albicans/Antifungal activity/Hydroalcoholic extracts.*



Reviewed by:
Marco Antonio Aquino
ENGLISH PROFESSOR
C.C. 1753456134

1. CAPÍTULO I. INTRODUCCION.

Las plantas medicinales andinas de Chimborazo tienen una amplia tradición ancestral documentada en varios estudios etnobotánicos recientes. En esta provincia andina de Ecuador, se han registrado al menos 153 especies diferentes de plantas medicinales utilizadas para tratar 179 síntomas, destacándose especies como la manzanilla, la ruda, la hierba santa y el eucalipto. Además, en la zona urbana de Riobamba, se identifican 49 especies medicinales pertenecientes a 29 familias, principalmente *Asteraceae*, *Lamiaceae* y *Apiaceae* (1).

El páramo andino es rico en biodiversidad vegetal que antiguamente se usaba por sus beneficios medicinales que contribuyen a mejorar la calidad de vida de las personas y que aún, muchas de ellas no han sido actualmente estudiadas científicamente(2). Esta falta de información genera una brecha importante en el conocimiento, limitando el aprovechamiento científico y medicinal de estas especies endémicas, así como la validación de sus usos tradicionales en comunidades locales.

La mayoría de las investigaciones sobre estas plantas se han centrado en especies de otras regiones o en propiedades generales, pero no en su potencial antifúngico frente a patógenos orales relevantes ni bajo las condiciones particulares de las especies andinas, que pueden presentar perfiles fitoquímicos únicos debido a las condiciones ambientales extremas del páramo.

Las enfermedades bucodentales representan un desafío importante para la salud pública a nivel global, ya que, según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), afectan a más de la mitad de la población mundial. Entre las patologías más frecuentes se encuentran la caries dental, la enfermedad periodontal, la halitosis, las lesiones orales de diversa etiología, las infecciones micóticas y las manifestaciones orales asociadas a enfermedades sistémicas. Esta situación es especialmente crítica en grupos vulnerables como personas de edad avanzada, pacientes inmunosuprimidos o aquellos que padecen enfermedades crónicas(3).

Ante el aumento de enfermedades bucodentales a pesar de constantes esfuerzos médicos y científicos de contrarrestarlo, en las últimas décadas, la resistencia a antimicótico y efectos

adversos de los medicamentos químicos usados en Odontología en diversos tratamientos ha ido aumentando en todo el mundo, por lo que, existe la necesidad de buscar diferentes enfoques de medicina herbal(4).

La candidiasis oral representa una de las infecciones fúngicas más comunes que afecta frecuentemente la mucosa oral provocado por la infección oportunista de la *Candida albicans* en pacientes inmunocomprometidos y riesgo de lesiones precancerosas de la mucosa oral, en displasia moderada y severa si el paciente, además, presenta factores de riesgo como el tabaco, alcohol, entre otros(5)(6).

En el trabajo de investigación de Reinoso y Colcha (7) confirma que las técnicas *in vitro* son indispensables para identificar la eficacia antifúngica de metabolitos secundarios en plantas altoandinas. Por lo cual, se ha tomado en cuenta el diseño experimental *in vitro* de especies vegetales como la *Mentha piperita* (menta), *Callistemon citrinus* (cepillo), *Salix humboldtiana* (sauce negro) y *Plectranthus amboinicus* (orégano) siendo estas del Páramo andino de Chimborazo, por lo tanto, se usará contra la *Candida albicans*.

Es por ello que la presente investigación se basa en caracterizar la actividad antifúngica específica contra *Candida albicans*, ya que se consideró este como un patógeno de alta relevancia clínica en infecciones orales. Además, identificar y cuantificar compuestos bioactivos únicos que se presentan en estas plantas debido a su adaptación al ecosistema andino, por lo tanto, puede revelar nuevos metabolitos con potencial terapéutico y generar datos preliminares que funcionen de base para estudios *in vivo* y clínicos, es así como se podría acelerar el desarrollo de alternativas naturales para el tratamiento de candidiasis oral y otras infecciones.

Las técnicas *in vitro* son importantes para la evaluación de la actividad antifúngica de las especies vegetales (7). Por lo que, el presente estudio implementa un diseño *in vitro* con extractos hidroalcohólicos de *Plectranthus amboinicus* y *Salix nigra*, y de aceites esenciales de *Mentha piperita* L. y *Callistemon citrinus*, con el fin de evaluar su acción antifúngica frente a *Candida albicans*. Este enfoque posibilita la obtención de datos reproducibles, controlar factores ambientales, evaluar y medir la actividad biológica, además, determinar los mecanismos de acción.

De igual manera, el presente trabajo investigativo forma parte del proyecto de investigación “Desarrollo de Fitofármacos odontológicos con plantas nativas” beneficiando en especial a las comunidades rurales de Chimborazo, al promover la utilización de extractos y aceites esenciales de plantas medicinales locales de fácil acceso como tratamiento complementario en infecciones orales y de bajo costo, ya que suelen presentar acceso limitado en servicios odontológicos. Así como pacientes que hayan presentado resistencia ante antifúngicos convencionales o efectos adversos ante su aplicación o consumo.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo General

Evaluar la actividad antimicrobiana in vitro de extractos de plantas medicinales del páramo andino de Chimborazo frente a cepas de *Candida albicans*.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Identificar las plantas medicinales nativas del páramo andino de Chimborazo más utilizadas como antimicrobianos de forma tradicional.
- Obtener y preparar extractos hidroalcohólicos de cuatro especies vegetales con propiedades medicinales autóctonas del páramo andino de Chimborazo con uso tradicional en afecciones bucales.
- Determinar la actividad antimicrobiana de forma *in vitro* de extractos de plantas medicinales frente *Candida albicans*, mediante la técnica de difusión en agar.
- Comparar la eficacia in vitro de los extractos de plantas medicinales frente a *Candida albicans*.

2. CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.

2.1 Plantas medicinales

2.1.1 Plantas medicinales del Páramo Andino

El Páramo Andino ecuatoriano destaca por su rica diversidad de plantas medicinales adaptadas a altitudes entre 3.500 y 5.000 msnm (metros sobre el nivel del mar). Estas especies, usadas ancestralmente por comunidades indígenas como kichwas, han sido validadas por estudios etnobotánicos y fitoquímicos (8).

Este alberga cerca de 4.700 especies de plantas, muchas endémicas, con un rol crucial en la provisión de agua y servicios ecosistémicos para comunidades andinas. Su flora incluye gramíneas (pajonales), cojines y rosetas gigantes, con un 40-50% de endemismo que sustenta usos medicinales ancestrales respaldados por etnobotánica y fitoquímica moderna (9).

2.1.2 Biodiversidad de la flora en el Ecuador

Ecuador, uno de los países conocidos por su amplia biodiversidad gracias a la presencia de variedad en sus ecosistemas distribuidos entre la Costa, Sierra, Amazonía y Galápagos. Lo que permite la existencia de más de 18.000 especies vegetales con gran variedad en especies vegetales medicinales (1).

Los páramos andinos, localizados entre los 3000 y 4500 msnm, constituyen uno de los ecosistemas más singulares del país. Se caracterizan por temperaturas bajas, alta radiación ultravioleta, suelos pobres y marcadas fluctuaciones térmicas diarias. Estos factores han promovido adaptaciones metabólicas particulares en las plantas de páramo, incluyendo la síntesis elevada de metabolitos secundarios como flavonoides, terpenos y compuestos fenólicos, los cuales cumplen funciones defensivas y presentan potencial actividad antimicrobiana y antioxidante.

No obstante, la riqueza biológica que registra enfrenta amenazas importantes a causa de la deforestación, el cambio del estado del suelo, actividades que provocan la explotación de recursos naturales y la contaminación (2). La reducción de especies y hábitats compromete

la posibilidad de analizar los recursos fitogenéticos y su potencial medicinal antimicrobiano para futuras investigaciones. En este sentido, el trabajo de investigación científica sobre el efecto antimicrobiano de los extractos y aceites esenciales de las plantas nativas de Chimborazo adquiere relevancia, al permitir el análisis de nuevos compuestos bioactivos para aplicaciones terapéuticas (3).

2.1.3 Usos ancestrales de plantas medicinales

El uso ancestral de plantas medicinales forma parte del conocimiento tradicional de los pueblos indígenas del Ecuador. Desde tiempos precolombinos, diversas culturas han empleado especies vegetales para tratar afecciones digestivas, respiratorias, inflamatorias y dermatológicas (4). En mercados tradicionales como los de Loja se ha identificado una amplia diversidad de especies con fines medicinales, muchas de ellas provenientes de ambientes altoandinos (5).

El conocimiento etnobotánico no solo representa un valor cultural, sino también una guía científica útil. Las plantas utilizadas tradicionalmente suelen poseer metabolitos bioactivos que respaldan su eficacia. Por ejemplo, estudios recientes han identificado compuestos antioxidantes, antibacterianos y antivirales en plantas medicinales ecuatorianas, incluida actividad frente al SARS-CoV-2 (6).

En el contexto de esta investigación, la selección de especies medicinales del páramo responde tanto a la tradición ancestral como a la necesidad actual de validar científicamente su potencial antifúngico.

2.1.4 Importancia de las plantas en medicina

Las plantas son una fuente importante de compuestos bioactivos derivados de su metabolismo secundario. Entre ellos se encuentran alcaloides, flavonoides, terpenos y polifenoles. Además, moléculas con actividad antimicrobiana. (10). En Ecuador, estudios fitoquímicos han demostrado que plantas altoandinas contienen flavonoides, triterpenos y otros compuestos con efecto antiinflamatorio y efecto inhibitorio antes bacterias.

El constante crecimiento en cuanto a la resistencia microbiana es una preocupante amenaza global y presenta un mayor requerimiento de la identificación de nuevas alternativas terapéuticas (11). Las especies vegetales nativas del páramo, como resultado de su exposición a condiciones extremas climáticas producen compuestos químicos altamente estables y reactivos, lo que aumenta su potencial farmacológico.

En odontología, el interés en compuestos naturales como alternativa a antifúngicos convencionales aumenta ante el incremento de resistencias clínicas, particularmente frente a *Candida albicans*.

2.1.5 Plantas con potencial actividad antimicrobiana en Ecuador

La flora ecuatoriana incluye múltiples especies con actividad antimicrobiana comprobada. El aceite esencial de *Myrcianthes fragrans* (arrayán) ha demostrado inhibición significativa de *Candida albicans* y otras levaduras (12). A su vez, *Plectranthus amboinicus* (orégano) contiene carvacrol, timol y otros compuestos que exhiben actividad antimicrobiana y antioxidante (13).

Es importante mencionar que, algunas especies de alto interés, como *Salix humboldtiana*, *Satureja sericea* y *Mentha piperita*, no han sido analizadas científicamente de forma exhaustiva en Ecuador, existe evidencia internacional sobre su potencial farmacológico justificando su evaluación y análisis en modelos in vitro, particularmente contra microorganismos orales.

El presente estudio se integra en esta línea, contribuyendo al avance del conocimiento sobre la actividad antifúngica de especies nativas frente a *Candida albicans*.

2.1.6 Aceites esenciales y su relevancia en odontología

Los aceites esenciales son mezclas de compuestos volátiles principalmente como los terpenos, fenólicos y aldehídos con actividad antimicrobiana comprobada. En odontología se estudian por su eficacia contra bacterias periodontales, microorganismos cariogénicos y hongos orales.

A continuación, se amplía información de cada especie incluida en nuestra investigación:

Sauce negro



Ilustración 1. Planta de Sauce Negro

Nombre químico

Salix nigra

Descripción taxonómica

- **Reino:** Plantae
- **División:** Magnoliophyta
- **Clase:** Magnoliopsida
- **Orden:** Malpighiales
- **Familia:** Salicaceae
- **Género:** Salix
- **Especie:** *S. nigra* Marsh. (árbol 10-25 m, corteza negra rugosa; hojas estrechas lanceoladas 6-12 cm, amentos cilíndricos 5-7 cm; hábitat ribereño húmedo) (14).

Descripción fitoquímica

Corteza: salicina (1-11%), populina (hasta 7%), ácido salicílico, taninos condensados (10%), flavonoides (hiperósido, rutina); actividad antioxidante (DPPH IC₅₀ 35 µg/mL), antiartrítica (↓IL-1β/TNF-α 50%) confirmada por HPLC y ensayos en ratas (Sharma 2011; Gawlik-Dziki 2014) (14).

Usos

Para el estrés oxidativo en artritis ya que llega a disminuir el edema en un 60%. Se usa tradicionalmente para dolor, fiebre, malaria, gonorrea se prepara como infusión de 1-2 g/día; cantidad segura menos de 3 g/día, así evita úlceras o Reye (15).

Cepillo



Ilustración 2. Planta de Cepillo

Nombre químico

Callistemon citrinus

Descripción taxonómica

- **Reino** Plantae
- **Subreino** Tracheobionta
- **Superdivisión** *Spermatophyta*
- **División** Magnoliophyta
- **Clase** Dicotiledóneas
- **Subclase** Rosidae
- **Reino:** Plantae
- **Familia:** Myrtaceae
- **Género:** *Callistemon*(16)
- **Especie:** *C. citrinus* (arbusto perenne de 3-10 m, hojas lanceoladas verde-grises, inflorescencias cilíndricas rojas "escoba", nativo de Australia) (17).

Descripción fitoquímica

Hojas ricas en biocompuestos como 1,8-cineol 20-40%, alfa-terpineol, α -pineno), flavonoides (cianidina-3,5-O-diglucósido), taninos y polifenoles; exhibe inhibición de la enzima alfa-glucosidasa y actividad antioxidante (ensayo DPPH, con valores superiores al 80%) y antiinflamatoria por reducción de mieloperoxidasa (MPO) y ciclooxigenasa -2 (COX-2) (18).

Usos

Los extractos etanólicos obtenidos de las hojas tienen actividad gastroprotectora ya que ayuda a reducir úlceras en un 70% en modelos de rata asociada a la inhibición de citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y la interleucina 6 (IL-6). Por otro lado, se evidencia actividad antioxidante determinada mediante el ensayo DPPH, con valores superiores al 80% así como efecto antimicrobiano frente a *Helicobacter pylori* y *Staphylococcus aureus*. Y se ha evidenciado actividad antiinflamatoria en relación con la disminución de la expresión de ciclooxigenasa-2 (COX-2) y mieloperoxidasa (16).

Orégano



Ilustración 3. Planta de Orégano

Nombre químico

Plectranthus amboinicus

Descripción taxonómica

- **Familia:** Lamiaceae (subfamilia Nepetoideae)
- **Género:** *Plectranthus* L'Hér.
- **Especie:** *P. amboinicus* (Lour.) Spreng. (sinónimo *Coleus amboinicus* Lour.; hierba perenne suculenta <1 m, hojas carnosas ovado-reniformes 5-10 cm, crenadas y pubescentes con olor a orégano, flores lilas en racimos terminales 10-30 cm; nativa paleotrópico, cultivada 0-1700 msnm) (13).

Descripción fitoquímica

Las hojas contienen timol (20-45%), carvacrol (5-10%), rosmarinic acid (hasta 50 mg/g), flavonoides, terpenos y polifenoles; conocidos por su actividad antioxidante y efecto antimicrobiano (19).

Usos

Cólico, calambres de menstruación, dolor de estómago, gases, calambres de estómago como parte de síndrome pre menstrual (20).

Menta



Ilustración 4. Planta de Menta

Nombre químico

Mentha piperita L

Descripción taxonómica

- Familia: Lamiaceae (Labiatae)
- Género: *Mentha* L.
- Especie: *M. × piperita* L. (híbrido *M. aquatica* × *M. spicata*; hierba rizomatosa 30-90 cm, tallos cuadrangulares rojizos, hojas opuestas ovado-lanceoladas 4-9 × 1.5-4 cm dentadas verde oscuro, flores violáceas en verticilos espiciformes; prefiere suelos húmedos fértiles) (21).

Descripción fitoquímica

Hojas: aceite esencial 1-3% (mentol C₁₀H₂₀O 40-60%, mentona C₁₀H₁₈O 15-30%, cineol, limoneno), ácido rosmarínico (20-50 mg/g), flavonoides (luteolina-7-O-glucósido), taninos; IC₅₀ DPPH 20-50 µg/mL y espasmolítico intestinal asociado al bloqueo de los canales de calcio (Ca²⁺), evidenciado por una relajación aproximada del 80 % del íleon en modelos experimentales en ratas. (21).

El perfil químico se divide principalmente en su fracción volátil y sus compuestos fenólicos:

- **Aceite Esencial:** El metabolito secundario predominante es el mentol (30-55%), seguido del mentona (14-32%) y el acetato de mentilo (2-10%). La biosíntesis de estos monoterpenos ocurre en los tricomas glandulares peltados de las hojas (22). La calidad farmacopeica del aceite está supeditada a bajos niveles de mentofurano, cuya presencia excesiva suele ser indicativa de estrés hídrico o senescencia de la planta.
- **Compuestos Polifenólicos:** Además de los terpenos, la especie destaca por su alto contenido de ácido rosmarínico y flavonoides como la eriocitrina y la luteolina-7-O-glucósido. Estos compuestos son responsables de la actividad antioxidante y citoprotectora observada en extractos acuosos (21).

Usos

Cólico, dolor de estómago. Su método de uso es por medio de la planta entera, fresco o seco que se puede hervir en 1 litro de agua, añadir 10g de Poleo. Se recomienda tomar cuando hay síntomas (23).

2.1.7 Aceites Esenciales

2.1.7.1 Aceite esencial de Sauce negro (*Salix nigra*)

- Familia: Salicaceae
- Distribución: zonas andinas del Ecuador
- Metabolitos: ácido salicílico, taninos, flavonoides
- Actividad reportada: antiinflamatoria, analgésica y antimicrobiana
- Relevancia clínica: puede reducir inflamación y contribuir a la inhibición microbiana (24).

2.1.7.2 Aceite esencial de Cepillo (*Callistemon citrinus*)

- Familia: Lamiaceae.
- Rico en carvacrol y timol.
- Actividad antimicrobiana demostrada.
- Actividad antioxidante elevada.
- Relevancia clínica: carvacrol es uno de los compuestos más potentes contra *Candida albicans* (16).

2.1.7.3 Aceite esencial de Orégano (*Plectranthus amboinicus*)

- Contiene carvacrol, timol, γ -terpineno
- Actividad antibiofilm, antifúngica y antimicrobiana.
- Relevancia odontológica: útil en estomatitis protésica y candidiasis eritematosa.

2.1.7.4 Aceite esencial de Menta (*Mentha piperita* L)

- Componentes principales: mentol y mentona
- Actividad antimicrobiana y analgésica
- Efecto inhibidor sobre la formación de biofilm
- Relevancia clínica: útil como coadyuvante para disminuir carga microbiana oral.

2.1.8 Mecanismos antifúngicos de los aceites esenciales

Numerosos estudios demuestran que los componentes fenólicos y terpenoides de los aceites esenciales ejercen mecanismos específicos contra *Candida albicans*, entre los cuales destacan:

1. Alteración de la membrana celular

Carvacrol, timol y mentol provocan pérdida de integridad de la membrana fúngica al insertarse entre fosfolípidos.

2. Inhibición de la síntesis de ergosterol

Compuestos terpenoides interfieren en la ruta del ergosterol, debilitando la membrana.

3. Inhibición del biofilm

Actúan en etapas de:

- Adhesión inicial,
- Maduración,
- Disrupción de la matriz extracelular.

4. Alteración del metabolismo mitocondrial

Provocan despolarización de la membrana mitocondrial, disminuyendo la viabilidad.

5. Regulación negativa de genes de virulencia

Incluyendo genes asociados:

- Adhesión.
- Formación de hifas.
- Producción de biofilm (25).

2.2 Hongos patógenos

2.2.1 *Candida*

El género *Candida* son hongos que colonizan la piel, la boca y el sistema gastrointestinal de las personas sanas. Son patógenos oportunistas y causan infecciones superficiales de la piel o las mucosas, como la candidiasis oral y la candidiasis vulvovaginal (CVV), y candidemia

en caso de inmunosupresión (25). Su biofilm es un factor de virulencia importante que protege a la levadura de la respuesta del sistema inmunitario del huésped y de los agentes antifúngicos en donde los microorganismos se adhieren entre sí y a una superficie biótica o abiótica volviéndose más resistentes a los antibióticos y productos químicos que sus formas planctónicas (26).

Se sabe que *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* forman biopelículas juntos en las prótesis dentales. Además, pueden colonizar juntos la oronafaringe y esto provoca infecciones sistémicas (27). Además, *C. albicans* forma biopelículas en la mucosa oral y esta estructura de biopelícula puede contener levaduras e hifas, así como bacterias de la flora como *S. aureus* (27).

2.2.2 Candidiasis oral

La candidiasis oral es una infección oportunista causada principalmente por *Candida albicans*, un hongo dimórfico capaz de transicionar entre formas levaduriformes y miceliales. Esta versatilidad morfológica contribuye a su patogenicidad, permitiéndole adherirse a tejidos, invadir mucosas y formar biofilm (12).

Estos factores predisponentes como: Inmunosupresión, uso prolongado de antibióticos, xerostomía, diabetes y uso de prótesis dentales mal ajustadas, son responsables del desarrollo y avance de la enfermedad. Por otro lado, estudios recientes han evidenciado cambios en la susceptibilidad antifúngica de *Candida* obtenidos de cavidad oral, incluyendo la presencia de resistencia parcial a fluconazol y nistatina (13). Destacando la necesidad de alternativas fitoquímicas para el manejo de las infecciones orales a causa de este patógeno.

2.2.3 Epidemiología de la candidiasis oral

Las infecciones frecuentes en la cavidad oral por *candida albicans* afectan en su mayoría en pacientes con VIH/SIDA, personas en tratamiento oncológico, adultos mayores, pacientes diabéticos, pacientes con prótesis. Existe una estimación que represente que más del 50% de los adultos pueden presentar signos asintomáticos por *Candida* en por lo menos, una vez en su vida que puede estar vinculada por hábitos de higiene bucal, su estilo de vida relacionado a dieta y deporte, tabaquismo y enfermedades sistémicas como diabetes. Es fundamental reconocer estos factores que crea un ambiente favorecedor para la aparición de candidiasis

oral ya que se puede optar por estrategias para contrarrestar su avance y aplicar terapias de manejo correctas sobre todo en grupos vulnerables (28).

2.2.4 Manifestaciones clínicas

Las formas clínicas incluyen:

- **Candidiasis pseudomembranosa:** presentan placas blancas que se desprenden al raspado.
- **Candidiasis atrófica/eritematosa:** se observan áreas enrojecidas y dolorosas.
- **Candidiasis hiperplásica crónica:** caracterizada por placas blancas adherentes.
- **Estomatitis protésica:** está asociada por el uso prolongado de prótesis y a la falta de higiene de la misma.

Las patologías crónicas están asociadas por la formación de biofilm ya que esta estructura aumenta la resistencia antimicótica e impide la erradicación de la misma.

2.2.5 Biofilm de *Candida albicans* y su importancia clínica

El biofilm es una configuración tridimensional integrada por células de *Candida* que se encuentran adheridas entre sí y rodeadas por una matriz extracelular rica en glucanos, proteínas y moléculas lipídicas. Estos compuestos ofrecen protección a este hongo cuando se encuentra amenazado por antifúngicos, respuesta inmune del paciente y/o el estrés oxidativo.

La importancia clínica radica en la resistencia antifúngica del biofil y su incremento con respecto a las células platónicas que es hasta de 1000 veces además está fácilmente coloniza la superficie es protésicas y es responsable de la estomatitis protésica, también aumenta la invasividad por su estructura en forma de levadura a hifa.

Los aceites esenciales poseen metabolitos secundarios como el carvacrol timol mentol encargados de disminuir el biofil inhibir o adhesión inicial o bloquear la formación de hifas.

2.2.6 Tratamiento farmacológico de la candidiasis oral

Los fármacos antifúngicos que se pueden utilizar para tratar la infección *por Candida albicans* incluyen actualmente polienos, azoles y equinocandinas (26). La anfotericina B (AmB), que se utiliza principalmente como fármaco polieno, debe utilizarse con precaución debido a su grave nefrotoxicidad y hepatotoxicidad, aunque tiene un buen efecto terapéutico (27). Los azoles se dividen en dos subcategorías dependiendo de su estructura química:

imidazoles, como el clotrimazol, el ketoconazol y el miconazol; y triazoles, como azol y fluconazol. Los imidazoles se utilizan para tratar la candidiasis mucosa, mientras que los fármacos triazoles se utilizan generalmente para tratar infecciones mucosas y sistémicas causadas por *Candida albicans* (28). Las equinocandinas, que incluyen principalmente caspofungina, micafungina y anidulafungina, pueden inhibir la β -(1,3)-D-glucano sintasa (una enzima implicada en el crecimiento fúngico) y, por lo tanto, inhibir la producción de β -(1,3)-D-glucano, lo que provoca la pérdida de rigidez de la pared celular fúngica y la lisis celular.

El tratamiento convencional incluye antifúngicos tópicos y sistémicos como:

- Nistatina: Suspensión de nistatina 4–6 mL de IV días (29).
- Fluconazol: dosis de 200 mg, seguida de 100–200 mg por vía oral una vez al día (29).
- Clotrimazol: Una troche oral de 10 mg de clotrimazol cinco veces al día (29).

Aunque estos agentes suelen ser efectivos, el aumento de resistencia limita su efectividad clínica. Esta situación abre la posibilidad de emplear compuestos naturales como coadyuvantes o alternativas terapéuticas.

Casi todos los fármacos antimicóticos clínicos existentes tienen algunos inconvenientes, como la resistencia a los medicamentos, los efectos no deseados, la alta toxicidad y los efectos secundarios, y la escasa eficacia de las combinaciones. La resistencia a los fármacos antimicóticos no solo se debe al abuso clínico de los medicamentos, sino también al contacto prolongado con ellos en la vida cotidiana. Muchos fármacos antimicóticos (como los triazoles) se pulverizan como pesticidas en los cultivos, directamente o a través de los alimentos cárnicos, y finalmente entran en el cuerpo humano a través de la cadena alimentaria.(29) Por lo tanto, el rápido desarrollo de cepas resistentes a los fármacos y el número limitado de fármacos antimicóticos prometedores son dos problemas importantes que dificultan el tratamiento de la infección (30) (30).

3. CAPÍTULO III. METODOLOGIA.

3.1 Tipo de investigación

De acuerdo con Duke J.A (31) el tipo de investigación es cuasiexperimental ya que menciona que esta investigación se caracteriza por la manipulación intencional de una variable independiente para observar su efecto sobre una o más variables dependientes bajo condiciones controladas, permitiendo establecer relaciones causales. Este tipo de diseño es pertinente cuando el objetivo es evaluar el efecto de un tratamiento, sustancia o intervención, como ocurre al analizar el comportamiento o actividad de extractos de plantas medicinales. La experimentación ofrece un alto control interno y posibilita determinar cambios atribuibles directamente a la intervención aplicada.

3.2 Nivel o alcance de investigación

Este corresponde a un nivel descriptivo ya que, en base a Lopes y Shara ((32)(33) este tiene como finalidad caracterizar fenómenos, especificar propiedades, comportamientos o características relevantes, sin buscar aún la explicación profunda de causas subyacentes. Este alcance es adecuado cuando el estudio requiere detallar propiedades de plantas medicinales seleccionadas, su comportamiento frente a otros organismos vivos o sus reacciones observadas durante el experimento. Los estudios descriptivos permiten organizar y presentar la información de forma objetiva, facilitando la interpretación de patrones y magnitudes observadas en el proceso investigativo.

3.3 Enfoque

El enfoque de la presente investigación es de carácter cuantitativo en donde Koo H y colaboradores (34) mencionan que el enfoque cuantitativo se basa en la recolección de datos numéricos, el uso de instrumentos estandarizados y el análisis estadístico para medir fenómenos y probar hipótesis. Su finalidad es garantizar precisión, objetividad y replicabilidad. Este enfoque es adecuado para estudios donde se miden efectos de manera numérica, como actividad antimicrobiana, porcentajes de inhibición, concentraciones mínimas inhibitorias o cualquier respuesta medible generada por las plantas medicinales analizadas.

3.4 Diseño

El presente estudio cumple con un diseño cuasiexperimental, en donde Galluci MN y Capili (28, 29) refiere que este diseño conserva la intervención, pero carece de aleatorización completa, siendo útil en investigaciones donde la aleatorización es limitada o imposible debido a factores como la disponibilidad de material vegetal. Ambos diseños son válidos para evaluar el efecto de preparaciones de plantas medicinales, ajustándose a las condiciones reales del laboratorio o del entorno biológico. La literatura reciente afirma que los estudios cuasiexperimentales son una alternativa sólida cuando las condiciones experimentales ideales no pueden alcanzarse.

3.5 Población

La población del presente estudio está constituida por unidad experimental ATCC de *Candida albicans* representando el objeto de estudio ya que permiten evaluar la respuesta biológica frente a la acción antifúngica de los extractos hidroalcohólicos de plantas medicinales seleccionadas.

3.6 Muestra

La muestra es de carácter no probabilístico en donde Brick JM y Boyd RJ (30,31) describe que la misma se caracteriza porque no todos los elementos de la población tienen la misma probabilidad conocida de ser seleccionados. Su elección responde a criterios de accesibilidad, conveniencia, juicio del investigador o pertinencia al objetivo científico. Este tipo de muestreo es común en investigaciones con plantas medicinales, especialmente cuando la selección depende de su disponibilidad en la zona, su uso tradicional o la presencia de características específicas. El tamaño de la muestra fue determinado con base a criterios científicos priorizando su selección por la evidencia de actividad antifúngica reportada en la literatura. La muestra estuvo conformada por dos extractos hidroalcohólicos obtenidos experimentalmente mediante el método de maceración y dos aceites esenciales seleccionados por su potencial efecto frente a *Candida albicans*.

3.7 Técnica

La evaluación de la actividad antimicrobiana se realizó empleando la técnica de difusión en agar tipo Mueller Hinton (MHA). Para lo cual, se prepararon discos estériles impregnados con aceites esenciales y extractos hidroalcohólicos obtenidos de las plantas medicinales del

páramo andino de Chimborazo. Los discos fueron colocados sobre placas de agar previamente inoculadas con cepas ATCC (10231) de *C. albicans*.

Los extractos hidroalcohólicos fueron preparados mediante la técnica de maceración con etanol 70%, concentrados por evaporación y almacenados a 4 °C hasta su uso. Cada ensayo se realizó por triplicado para asegurar la reproducibilidad de los resultados. Tras la incubación a 37 °C durante 24–48 horas, se midieron los diámetros de inhibición alrededor de los discos en milímetros, registrando la actividad antimicrobiana de cada extracto.

Se utilizaron controles positivos (fluconazol) y negativos (solvente puro) para validar la técnica (35)(36).

3.8 Instrumento

Para evaluar cuantitativamente la actividad antimicrobiana se empleó una bitácora de laboratorio en donde se registró los diámetros de inhibición (mm) obtenidos por medio de la técnica de difusión en agar tipo Mueller Hinton (MHA). La utilización de este instrumento nos ayudó a registrar los resultados de forma sistémica de cada muestra evaluada de los extractos hidroalcohólicos y aceites esenciales.


4. CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

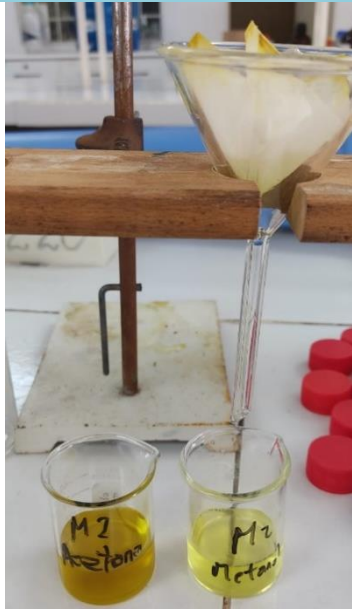
4.1 RESULTADOS

4.1.1 Proceso de Maceración y Preparación de Extractos.

La siguiente tabla presenta de manera detallada el procedimiento empleado para la extracción y preparación de muestras de plantas obtenidas del páramo andino de Chimborazo. En ella se describen las etapas desarrolladas en el laboratorio, que comprendieron la maceración del material vegetal, la filtración del extracto obtenido y su posterior acondicionamiento, con el propósito de garantizar muestras adecuadas para el análisis. Asimismo, las imágenes incluidas a continuación permiten visualizar cada una de las fases del protocolo, evidenciando las técnicas y operaciones realizadas durante el proceso.

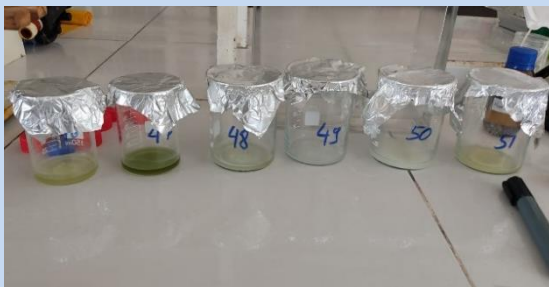
Tabla 1. Proceso de Maceración y Preparación de Extractos.

Maceración y Preparación de Extractos	
<p>Paso 1: Maceración</p> 	<p>En esta etapa, se observa un precipitado oscuro en el fondo de un vaso de precipitados grande (500 ml). Esto sugiere que material vegetal o alguna sustancia sólida ha sido sumergida en un solvente durante un período de tiempo.</p> <p>La maceración es un proceso donde una sustancia sólida se empapa en un solvente para extraer compuestos solubles.</p> <p>El color oscuro y denso en el fondo indica que la extracción de los componentes de interés está en curso o se ha completado</p>
<p>Paso 2: Filtración</p>	<p>Una vez que la maceración ha permitido la extracción de los compuestos, es necesario separar el extracto líquido del material sólido residual. Esto se realiza mediante filtración.</p>



En la imagen, se ve un embudo con papel de filtro colocado en un soporte, y debajo, dos vasos de precipitados (M2 Acetona y M2 Metanol) recogiendo los filtrados. Esto indica que se están utilizando diferentes solventes o se están obteniendo fracciones con diferentes solventes para análisis posteriores

Paso 3: Almacenamiento y/o Secado de los Extractos

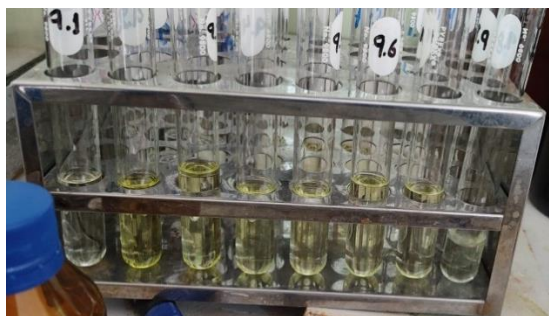


Después de la filtración, los extractos líquidos a menudo se preparan para su almacenamiento, concentración o secado. En esta imagen, se observan varios vasos de precipitados, algunos cubiertos con papel de aluminio.

Esto indica que los extractos se están protegiendo de la luz o la evaporación excesiva.

Los diferentes colores en los vasos indica que se han obtenido diferentes extractos de las distintas plantas usadas en este estudio.

Paso 4: Preparación de Muestras para Análisis



Esta imagen muestra una gradilla con numerosos tubos de ensayo, cada uno conteniendo un líquido amarillento y etiquetado con números (ej., 9.1, 9.6, 9.9).

Esto sugiere que los extractos obtenidos en los pasos anteriores han sido diluidos o preparados en diferentes concentraciones para ser analizados.

4.1.2 Resultados Halos de inhibición. Registro fotográfico



Ilustración 5. Resultado Sauce Negro

Descripción: Los resultados de actividad antifúngica del extracto de *Salix nigra* (Sauce Negro). En la placa de Petri existe un halo de inhibición claro y se puede medir en mm alrededor de los orificios donde se aplicó el extracto, indicando que éste tiene una gran capacidad para inhibir el crecimiento de *Candida albicans* ATCC.

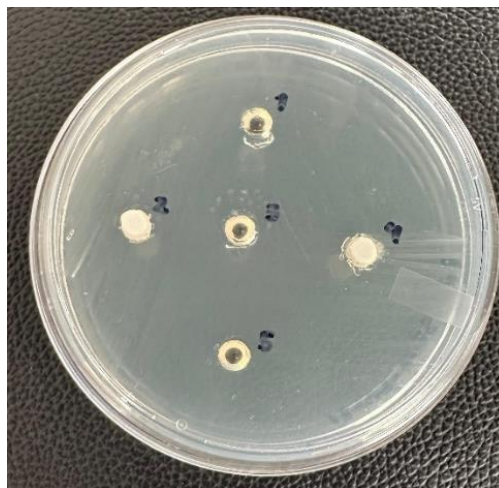


Ilustración 6. Resultado Cepillo

Descripción: Se observa el efecto del extracto de *Callistemon citrinus* (Cepillo) sobre el hongo *Candida albicans* ATCC. Esta imagen revela una inhibición total sin presencia de colonias fúngicas o bacterianas alrededor de varios puntos de aplicación, lo que sugiere la presencia de compuestos activos con grandes propiedades antifúngicas.

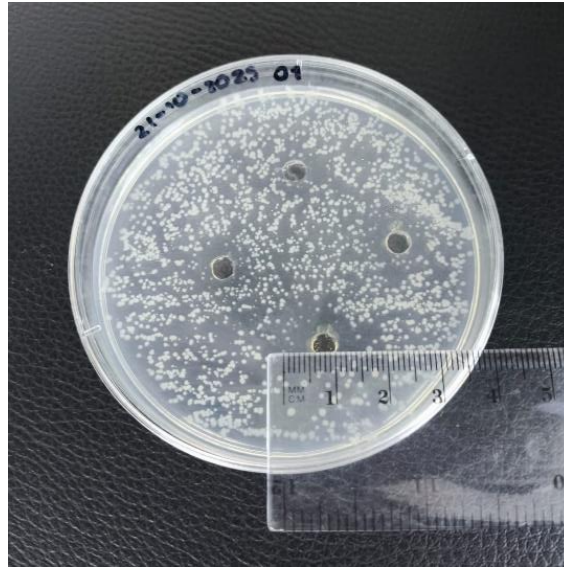


Ilustración 7. Resultado Orégano

Descripción: Demuestra la actividad antifúngica del extracto de *Plectranthus amboinicus* (Orégano). La placa Petri fue llenada con colonias de *C. albicans* ATCC y los halos de inhibición obtenidos en las regiones tratadas, aunque fueron cortos indicaron su capacidad para contrarrestar la infección. Se trata de un análisis visual que es importante para entender tanto que espectro cubre, como la potencia en términos relativos del orégano comparado con otros agentes antifúngicos.

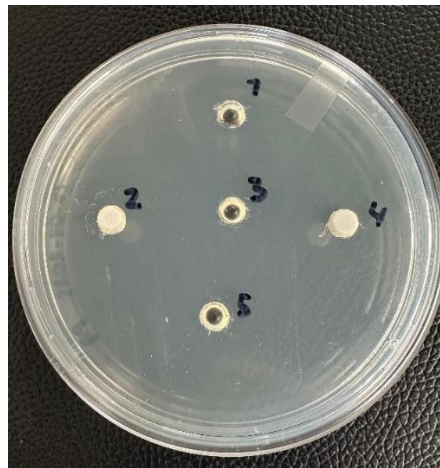


Ilustración 8. Resultado Menta

Descripción: Destaca los resultados obtenidos de la aplicación del extracto de *Mentha piperita* L (Menta). Esta placa de Petri muestra una inhibición total sin presencia de colonias fúngicas o bacterianas alrededor de varios puntos de aplicación los que son indicativos de la alta potencia de la menta, lo que la posiciona como un candidato prometedor en la búsqueda de tratamientos naturales.

4.1.3 Análisis de resultados

Tabla 2. Plantas utilizadas, muestra, método de siembra, halo de inhibición (mm) según el tipo de planta y controles evaluados.

	MUESTRA	MÉTODO DE DISCO	MÉTODO DE SIEMBRA A PROFUNDIDAD O POZO
		HALO DE INHIBICIÓN	
SAUCE NEGRO		100%	
	1	22 mm	22 mm
	2	18 mm	19 mm
	3	19 mm	20 mm
	Media	19,67 mm	20,33 mm
MENTA		100%	
	1	> 30 mm	N/A
	2	> 30 mm	N/A
	3	> 30 mm	N/A
	Media	30 mm	N/A
CEPILLO		100%	
	1	> 30 mm	N/A
	2	> 30 mm	N/A
	3	> 30 mm	N/A
	Media	30 mm	N/A
OREGANO		100%	
	1	13 mm	N/A
	2	12 mm	N/A
	3	11 mm	N/A
	Media	12 mm.	N/A
FLUCONAZOL		100%	
	1	12 mm	N/A
	2	27mm	N/A
	3	26 mm	N/A

Elaborado por: autores

Los resultados evidenciaron que el extracto de sauce negro presentó un efecto dependiente de la concentración, observándose un incremento progresivo del halo de inhibición desde 12,67 mm al 25% hasta 19,67 mm mediante el método de disco y 20,33 mm mediante el método de pozo al 100%. La menta y el cepillo al 100% mostraron los mayores halos de inhibición, superiores a 30 mm en todas las repeticiones, siendo los tratamientos con mayor efecto inhibitorio. En contraste, el orégano al 100% registró una media de 12 mm, representando el menor efecto entre los extractos evaluados. Por su parte, el fluconazol al 100% presentó halos entre 12 y 27 mm, evidenciando variabilidad en sus resultados.

Tabla 3. Estadísticos descriptivos (media, desviación estándar e intervalo de confianza) del halo de inhibición (mm) según el tipo de planta y controles evaluados.

		Descriptivos			
		Tipos de Plantas		Estadístico	Error estándar
Halo de inhibición	Sauce negro	Media		20,00	,683
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	18,24	
			Límite superior	21,76	
		Varianza		2,800	
		Desviación estándar		1,673	
	Orégano	Media		23,67	,882
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	21,40	
			Límite superior	25,93	
		Varianza		4,667	
		Desviación estándar		2,160	
	Control positivo	Media		22,50	1,176
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	19,48	
			Límite superior	25,52	
		Varianza		8,300	
		Desviación estándar		2,881	

Elaborado por: autores

El análisis descriptivo del halo de inhibición muestra que el orégano presentó la medida más alta 23.67 ± 2.16 mm; IC 95%: 21.40-25.93) seguido del control positivo (22.50 ± 2.88 mm: IC 95%:19.48-25.52) y el sauce negro ($20,00 \pm 1,67$ mm; IC95%: 18,24–21,76). Se observaron variaciones en la dispersión, siendo el control positivo el grupo con mayor desviación estándar (DE=2.881).

Tabla 4. Pruebas de normalidad del halo de inhibición (mm) según los tipos de plantas y controles.

		Pruebas de normalidad					
	Tipos de Plantas	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Halo de inhibición	Sauce negro	,225	6	,200*	,876	6	,252
	Orégano	,121	6	,200*	,983	6	,964
	Control positivo	,141	6	,200*	,973	6	,913

Elaborado por: autores

La distribución del halo de inhibición fue evaluada mediante las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk en cada uno de los grupos (n = 6 por grupo).

En la prueba de Kolmogorov-Smirnov se obtuvieron los siguientes valores: sauce negro (D = 0,225; p = 0,200), orégano (D = 0,121; p = 0,200) y control positivo (D = 0,141; p = 0,200). En la prueba de Shapiro-Wilk, los resultados fueron: sauce negro (W = 0,876; p = 0,252), orégano (W = 0,983; p = 0,964) y control positivo (W = 0,973; p = 0,913).

El valor p representa la probabilidad de obtener los resultados observados si la hipótesis nula fuera verdadera. En las pruebas de normalidad, la hipótesis nula establece que los datos siguen una distribución normal. Cuando $p \geq 0,05$, no se rechaza la hipótesis nula, lo que indica que no existe evidencia estadísticamente significativa para afirmar que los datos se desvían de la normalidad.

En todos los grupos evaluados, los valores de p fueron superiores a 0,05, por lo que se asumió que el halo de inhibición presentó distribución normal. Este resultado permitió el uso de pruebas estadísticas paramétricas posteriores, como el análisis de varianza (ANOVA), al cumplirse el supuesto de normalidad.

Tabla 5. Comparaciones múltiples del halo de inhibición (mm) entre los tipos de plantas y controles mediante la prueba HSD de Tukey

Comparaciones múltiples
Variable dependiente: Halo de inhibición
HSD Tukey

(I) Tipos de Plantas	(J) Tipos de Plantas	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
Sauce negro	Menta	-10,000*	,936	,000	-12,85	-7,15
	Cepillo	-10,000*	,936	,000	-12,85	-7,15
	Orégano	-3,667*	,936	,006	-6,51	-,82
	Control positivo	-2,500	,936	,111	-5,35	,35
	Control negativo	20,000*	,936	,000	17,15	22,85
Menta	Sauce negro	10,000*	,936	,000	7,15	12,85
	Cepillo	,000	,936	1,000	-2,85	2,85

	Orégano	6,333*	,936	,000	3,49	9,18
	Control positivo	7,500*	,936	,000	4,65	10,35
	Control negativo	30,000*	,936	,000	27,15	32,85
Cepillo	Sauce negro	10,000*	,936	,000	7,15	12,85
	Menta	,000	,936	1,000	-2,85	2,85
	Orégano	6,333*	,936	,000	3,49	9,18
	Control positivo	7,500*	,936	,000	4,65	10,35
	Control negativo	30,000*	,936	,000	27,15	32,85
Orégano	Sauce negro	3,667*	,936	,006	,82	6,51
	Menta	-6,333*	,936	,000	-9,18	-3,49
	Cepillo	-6,333*	,936	,000	-9,18	-3,49
	Control positivo	1,167	,936	,811	-1,68	4,01
	Control negativo	23,667*	,936	,000	20,82	26,51
Control positivo	Sauce negro	2,500	,936	,111	-,35	5,35
	Menta	-7,500*	,936	,000	-10,35	-4,65
	Cepillo	-7,500*	,936	,000	-10,35	-4,65
	Orégano	-1,167	,936	,811	-4,01	1,68
	Control negativo	22,500*	,936	,000	19,65	25,35
Control negativo	Sauce negro	-20,000*	,936	,000	-22,85	-17,15
	Menta	-30,000*	,936	,000	-32,85	-27,15
	Cepillo	-30,000*	,936	,000	-32,85	-27,15
	Orégano	-23,667*	,936	,000	-26,51	-20,82
	Control positivo	-22,500*	,936	,000	-25,35	-19,65

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Elaborado por: autores

La prueba HSD de Tukey evidenció diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en la mayoría de las comparaciones. El sauce negro difirió significativamente de menta, cepillo, orégano y control negativo. El orégano también mostró diferencias frente a menta, cepillo y control negativo. De igual manera, el control positivo presentó diferencias significativas en comparación con menta, cepillo y control negativo. El control negativo fue el grupo que mostró diferencias significativas frente a todos los demás ($p = 0,000$).

No se encontraron diferencias significativas entre sauce negro y control positivo ($p = 0,111$), entre orégano y control positivo ($p = 0,811$) ni entre menta y cepillo ($p = 1,000$).

El valor p expresa la probabilidad de que las diferencias observadas se deban al azar. En este análisis, los valores menores a 0,05 confirman que las diferencias encontradas entre varios tratamientos son reales y estadísticamente significativas, mientras que los valores mayores o iguales a 0,05 indican que entre esos grupos específicos no se evidenciaron diferencias en el halo de inhibición

4.2 DISCUSIÓN

En el presente estudio se obtuvieron hallazgos que demostraron actividad antifúngica in vitro de los extractos hidroalcohólicos como *Plectranthus amboinicus* y *Salix nigra*, y de aceites esenciales como la *Mentha piperita L.* y *Callistemon citrinus*; plantas medicinales del páramo andino del Chimborazo, frente a *C. albicans*. Obteniendo mayor eficacia en el potencial antifúngico de los aceites esenciales que generaron inhibición total ante el crecimiento fúngico en comparación a los extractos hidroalcohólicos que presentaron actividad intermedia ante *C. albicans*, que se constató mediante la formación de halos de inhibición medidos en milímetros por el método de difusión en agar.

El alto potencial de inhibición de crecimiento antifúngico observada del aceite esencial de *Mentha piperita L.* ante *C. albicans* hallada en el presente estudio, coincide con los valores de inhibición que se produjo en la evidencia reportada por Bona y colaboradores (37) quienes señalaron que varios aceites esenciales poseen actividad antifúngica significativa frente a este microorganismo a través de métodos estandarizados. En este sentido, los resultados obtenidos en nuestra investigación respaldan la eficacia antifúngica del aceite de menta alineándose con la literatura científica que reconoce su potencial y además, reforzando la evidencia que se podría construir alternativas terapéuticas complementarias a partir de aceites esenciales de especies vegetales medicinales.

En cuanto *Callistemon citrinus* también conocida como "cepillo", no se encontraron artículos relacionados ante actividad antimicótica frente a *C. albicans* probablemente porque el uso de esta planta es de uso ornamental en la mayor parte de países en donde se encuentra, de ahí su importancia de la presente investigación que aporta datos para hacer comparable con futuros estudios. En este sentido, los hallazgos obtenidos en el presente estudio forman parte de evidencia inicial como aporte científico por su potencial de inhibición total ante un microorganismo comúnmente encontrado en la cavidad oral, fortaleciendo la formación de bases en el campo de estudio de los recursos de especies vegetales para futuras investigaciones y estudios complementarios orientados a la aplicación del manejo terapéutico de infecciones de origen micótico en odontológica.

Existen limitados estudios que evalúen la actividad antifúngica de *Salix nigra* frente a *C. albicans* sin embargo, Usaal y colaboradores (15) han reportado que esta planta presenta

actividad antibacteriana frente a *S. aureus* con un halo de inhibición de 18mm quienes concluyeron la presencia de varios fitoquímicos como alcaloides y fenoles de gran importancia contra microorganismos patógenos. Por otro lado, estudios in vitro han demostrado que especies del género *Salix* tienen actividad antifúngica frente a *Candida albicans* en este sentido, Popova T y Kaleva M (38) reportaron que *Salix babylonica* L. presentó halos de inhibición de 3 muestras con valores de $14,0 \pm 7,52$ / $14,5 \pm 6,8$ / $14,25 \pm 6,29$ mediante el método de difusión agar evidenciando su efecto inhibidor frente al crecimiento del hongo.

La actividad antifúngica del *Plectranthus amboinicus* hallada en el presente estudio son consistentes con lo descrito por Hacıogly y colaboradores (38) quienes evidencian que el extracto esencial del orégano inhibe el crecimiento y formación de biopelículas micóticas reportando valores de aproximadamente una media de 47, 25 mm de halo de inhibición, mientras que en nuestro estudio se obtuvo un promedio de 30 mm. A pesar de existir diferencias atribuibles a variaciones metodológicas, tipo de extracto, concentración los resultados evidencian la eficacia antimicótica del orégano.

La actividad antifúngica de *Mentha piperita* L. se relaciona principalmente a su contenido de monoterpenos como mentol, mentona y otros terpenos volátiles, por su capacidad de alterar la membrana citoplasmática de *Candida albicans* lo que provoca permeabilidad y consecuente, la pérdida de esenciales componentes intracelulares. En base a estudios recientes, describen que estos metabolitos secundarios inducen cambios en la síntesis de ergosterol generando cambios estructurales de la pared celular fúngica interactuando en procesos normales de homeostasis iónica provocando la inhibición del crecimiento fúngico (39)(40).

En cuanto al caso de *Salix nigra*, su actividad antifúngica podría explicarse por la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides y derivados salicílicos los mismos que han mostrado acción antifúngica ya que, alteran estructuras celulares, interfieren con la síntesis de proteínas y enzimas además de provocar estrés oxidativo que afectan la supervivencia del microorganismos (41), lo que corrobora los resultados obtenidos.

Aunque la evidencia de *Callistemon citrinus* (planta de cepillo) ante *Candida albicans* es limitada, su actividad antifúngica puede correlacionarse con la existencia de compuestos

terpénicos como el eucalipto (1,8- cineol) (42) reconocido por su efecto antimicrobiano y antifúngico aunque más débil en relación a otros terpenos (timol o geraniol) sin embargo, este es responsables de la disrupción de la membrana celular fúngica, alteración de procesos metabólicos esenciales y la inhibición de crecimiento lo que podría fundamentar la actividad inhibitoria registrada (43).

El efecto antimicótico de *Plectranthus amboinicus* documentada se asocia a la presencia de compuestos fenólicos como carvacrol y timol, que inducen una alteración a la membrana celular y la síntesis de ergosterol de la *candida*, (44)(45) es decir, la pérdida de permeabilidad y efecto antifúngico lo que justifica los halos reportados.

Las discrepancias documentadas de los halos de inhibición obtenidos en el presente estudio con los datos reportados en la literatura podrían estar relacionadas por varios factores metodológicos como, por ejemplo, el tipo de extracto usado, la concentración empleada y la variabilidad genética de la cepa de *Candida albicans* analizada. Se ha descrito que la actividad antimicrobiana de extractos hidroalcohólicos y aceites esenciales pueden cambiar significativamente por el método de extracción empleado y la composición fitoquímica resultante (46). Por otra parte, se atribuye otras variaciones al estado de las pruebas usadas, como pruebas de difusión en agar que podrían presentar cambios por su forma de incubación o solubilidad del extracto empleado ya que puede subestimar o sobreestimar la actividad real (47).

Para el área de Odontología, los resultados observados proponen que los extractos hidroalcohólicos y aceites esenciales podrían abrir la posibilidad de constituir una alternativa complementaria como formulaciones tópicas para el tratamiento de infecciones orales causadas por *candida albicans*, en especial en pacientes inmunocomprometidos o que usan prótesis dentales (48). La integración de compuestos naturales podría mitigar manifestaciones no deseadas en consecuencia del uso de antimicóticos sintéticos.

Las limitaciones principales del presente estudio se encuentra el carácter in vitro, lo que impide extrapolar directamente los resultados al entorno clínico. No se evaluaron parámetros cuantitativos como la concentración mínima inhibitoria (CMI) ni la concentración mínima fungicida (CMF), los cuales permitirían obtener una estimación más precisa de la actividad antifúngica. Asimismo, no se realizó un análisis cromatográfico para identificar los

compuestos responsables de la acción observada. Finalmente, no se evaluó la citotoxicidad sobre células orales, aspecto fundamental antes de proponer aplicaciones clínicas (49).

Se sugiere que en futuros estudios incorporen la determinación de CMI y CMF, estudios in vivo que permitan evaluar la eficacia y seguridad clínica para validar su potencial de su utilidad terapéutica. Asimismo, analizar el efecto antimicrobiano de los extractos de plantas medicinales ante otros microorganismos importantes de la cavidad oral.

En conjunto, los resultados obtenidos evidencian que las especies vegetales analizadas presentan actividad antifúngica significativa frente a *Candida albicans*, destacando especialmente los aceites esenciales. Estos resultados constituyen una base para futuras investigaciones más profundas encaminadas a la implementación de tratamientos complementarios en salud oral.

5. CAPÍTULO V. CONCLUSIONES y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

1. En virtud de la revisión bibliográfica y expediciones de campo mediante estudios piloto y pruebas preliminares, se identificó especies vegetales que presentaron mayor efecto antimicrobiano, como: *Mentha piperita L.*, *Salix nigra*, *Callistemon citrinus* y *Plectranthus amboinicus* empleadas de forma tradicional para el tratamiento de afecciones bucales, lo que respalda la importancia del conocimiento etnobotánico ancestral y posicionando al páramo andino de Chimborazo como fuente de riqueza vegetal con potencial medicinal.
2. Se obtuvo extractos hidroalcohólicos estandarizados de *Plectranthus amboinicus* y *Salix nigra* con el método de maceración, complementados con aceites esenciales de *Mentha piperita L.* y *Callistemon citrinus* mediante las técnicas de destilación por arrastre de vapor y Soxhlet, estas metodologías empleadas permitieron generar metabolitos secundarios de estas plantas para su posterior análisis *in vitro*.
3. Todos los extractos presentaron actividad antifúngica significativa contra *C. albicans* mediante la técnica de sembrado en superficie y en profundidad, con inhibición total (>30 mm) de aceites esenciales expuestos como la *Mentha piperita L.* y *Callistemon citrinus* con una alta sensibilidad ante el microorganismo, e inhibición intermedia de los extractos hidroalcohólicos de *Plectranthus amboinicus* (media $23,67 \pm 2,16$) y *Salix nigra* ($20,00 \pm 1,67$ mm) atribuibles a la presencia de bioactivos como flavonoides y fenoles. Estos resultados, consistentes con estudios previos, resaltan el potencial terapéutico de estas especies vegetales andinas en infecciones orales producidas por *C. albicans*.
4. El análisis comparativo de los resultados evidenció diferencias estadísticamente significativas en la eficacia antifúngica de los extractos hidroalcohólicos y aceites esenciales analizadas, destacándose *Mentha piperita L.* y *Callistemon citrinus* con un potencial altamente antifúngico frente a *C. albicans* asociados a valores clínicamente importantes.

5.2 RECOMENDACIONES

- Se incorpore la realización para futuras investigaciones de diluciones seriadas de los extractos vegetales frente *Candida albicans* para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI), a fin de obtener mejor precisión en las evaluaciones obtenidas y más objetivas al realizar comparaciones sobre su actividad.
- Se considera pertinente ampliar el análisis evaluando el efecto in vitro de estas plantas sobre otros microorganismos con relevancia clínica en la cavidad oral con el propósito de explorar y extender el potencial antimicrobiano de los extractos junto con su aplicación como alternativas terapéuticas.
- Se recomienda analizar diferentes métodos de extracción (acuoso, etanólico y alcohólico) con el fin de establecer posibles diferencias en su efectividad antimicótica y obtener el de mayor eficacia contra *Candida albicans*.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Sol AB del, A V-RJ, R B-SL, Carolina C-VN. Plantas medicinales. Univ Reg Autónoma Los Andes St Domingo Ecuador. 2011;1–2.
2. Vivar M, Silva R. The importance of plants and their medicinal properties in the andean world. *Rev Ateneo* [Internet]. 2024;26(1):159–71. Available from: <http://www.colegiomedicosazuay.ec/ojs/index.php/ateneo/article/view/344>
3. Verville L, Ogilvie R, Hincapié CA, Southerst D, Yu H, Bussières A, et al. Systematic Review to Inform a World Health Organization (WHO) Clinical Practice Guideline: Benefits and Harms of Structured Exercise Programs for Chronic Primary Low Back Pain in Adults. *J Occup Rehabil*. 2023 Dec 1;33(4):636–50.
4. Moshaverinia M, Sahmeddini S, Lavee F, Zareshahrabadi Z, Zomorodian K. Antimicrobial and Anti-Biofilm Activities of *Thymus fallax* Essential Oil against Oral Pathogens. *Biomed Res Int* [Internet]. 2022;2022. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1155/2022/9744153>
5. Bendel CM, Swanson EC. Candidiasis. Remingt Klein’s *Infect Dis Fetus Newborn Infant*, Ninth Ed [Internet]. 2023 May 29 [cited 2025 Oct 20];966-987.e6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560624/>
6. Abuhajar E, Ali K, Zulfiqar G, Ansari K Al, Raja HZ, Bishti S, et al. Management of Chronic Atrophic Candidiasis (Denture Stomatitis)—A Narrative Review. *Int J Environ Res Public Heal* 2023, Vol 20, Page 3029 [Internet]. 2023;20(4):3029. Available from: <https://www.mdpi.com/1660-4601/20/4/3029/htm>
7. Colcha KFF, Reinoso S. "ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA “IN VITRO” DE ACEITE ESENCIAL Y EXTRACTO ALCOHÓLICO DE *Mentha piperita* “HIERBA BUENA” SOBRE *Candida albicans* CEPA ATCC 10231” [Internet]. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO; 2017. Available from: <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/4482/1/UNACH-EC-FCS-ODT-2017-0036.pdf>
8. Cerón CE, Herbario M, Paredes A. Plantas medicinales de los Andes ecuatorianos. Univ Mayor San Andrés. 2006;285293.
9. Museo Ecuatoriano de Ciencias Naturales del, Biodiversidad IN de, Ecuador PPN del. Plantas de los paramos del distrito metropolitano de quito, Ecuador [Internet]. 2nd ed. Vol. 2. Serie de Publicaciones del Museo Ecuatoriano de Ciencias Naturales del Instituto Nacional de Biodiversidad. Publicación Patrimonio Natural del Ecuador; 2015. 1–116 p. Available from: <https://www.mobot.org/mobot/research/pdf/PlantasParamosDMQ.pdf>
10. Di Cosola M, Cazzolla AP, Charitos IA, Ballini A, Inchingolo F, Santacroce L. *Candida albicans* and Oral Carcinogenesis. A Brief Review. *J Fungi* 2021, Vol 7, Page 476 [Internet]. 2021 Jun 12 [cited 2025 Oct 20];7(6):476. Available from: <https://www.mdpi.com/2309-608X/7/6/476/htm>
11. Roy BA, Zorrilla M, Endara L, Thomas DC, Vandegrift R, Rubenstein JM, et al. New Mining Concessions Could Severely Decrease Biodiversity and Ecosystem Services in Ecuador. *Trop Conserv Sci* [Internet]. 2018;11. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/1940082918780427>
12. Villota Cabrera Carmen Julia. Inhibición de *Cándida Albicans* a partir de aceite esencial de Botoncillo. Univ Cent DEL ECUADOR [Internet]. 2019;81. Available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/18735/1/T-UCE-0015-ODO-172.pdf>
13. Arumugam G, Swamy MK, Sinniah UR. *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng: Botanical, Phytochemical, Pharmacological and Nutritional Significance. *Molecules*.

- 2016;21(4).
14. Gawlik-Dziki U, Sugier D, Dziki D, Sugier P. Bioaccessibility in vitro of nutraceuticals from bark of selected *Salix* species. *Sci World J.* 2014;2014.
 15. Tahir U, Fakhar M, Zameer M, Yasmeen U, ... Antibacterial Activity, Phytochemical Analysis and FT-IR Analysis of *Salix Nigra* Plant Extract Against Gram Positive and Gram Negative Bacteria. *Fresenius Env ...* [Internet]. 2022;31(August):7535–42. Available from: https://www.academia.edu/download/111052560/new_paper.pdf
 16. Sutar N, Kumar M, Sutar R. *Callistemon Citrinus* (Bottle Brush) an Important Medicinal Plant: a Review of Its Traditional Uses, Phytoconstituents and Pharmacological Properties. *Artic Indian Res J Pharm Sci* [Internet]. 2014;(June 2014). Available from: <https://www.researchgate.net/publication/363365016>
 17. Hope O, Naster C, Sarah NO, Sarah NE, Sarad Pawar Naik B. A systematic review of the ethnopharmacology and phytochemistry of *Callistemon citrinus* “Myrtaceae”: Implication for phytomedicine future prospect . *RPS Pharm Pharmacol Reports.* 2024;(September 2024).
 18. Piñón-Simental JS, Ayala-Ruiz LA, Ortega-Pérez LG, Magaña-Rodríguez OR, Meléndez-Herrera E, Aguilera-Méndez A, et al. Use of *Callistemon citrinus* as a gastroprotective and anti-inflammatory agent on indomethacin-induced gastric ulcers in obese rats. *PeerJ.* 2024;12:1–31.
 19. Menéndez Castillo RA, Pavón González V. *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. Vol. 4, *Revista Cubana de Plantas Medicinales.* 1999. p. 110–5.
 20. TRAMIL. *Plectranthus amboinicus* [Internet]. TRAMIL. 2017. Available from: <https://www.tramil.net/es/plant/plectranthus-amboinicus>
 21. de Melo G, Weikum G. *Menta.* Univ Complut Madrid. 2010;1099–108.
 22. Zerkani H, Tagnaoute I, Zerkani S, Radi F, Amine S, Cherrat A, et al. Study of the Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Essential Oil of *Mentha suaveolens* Ehrh from Morocco. *J Essent Oil-Bearing Plants.* 2021;24(2):243–53.
 23. Bussmann RW. *PLANTAS MEDICINALES DE LOS ANDES Y LA AMAZONIA-La Flora mágica y medicinal del Norte del Perú Medicinal plants and their ecology in Northern Peru and Southern Ecuador View project Ethnobotany and livelihoods in Madagascar and Eastern Africa View project* [Internet]. 2015. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/283355334>
 24. Melendres MMM. Estudio bibliográfico sobre los metabolitos secundarios de cuatro especies del género *Piper* y sus principales propiedades bioactivas. *Edu Res Indones Inst Corp Learn Stud.* 2024;5(1):70–80.
 25. Lohse MB, Gulati M, Craik CS, Johnson AD, Nobile CJ. Combination of Antifungal Drugs and Protease Inhibitors Prevent *Candida albicans* Biofilm Formation and Disrupt Mature Biofilms. *Front Microbiol.* 2020;11(May):1–12.
 26. Hacioglu M, Oyardi O, Kirinti A. *Oregano* essential oil inhibits *Candida* spp. biofilms. *Zeitschrift fur Naturforsch - Sect C J Biosci* [Internet]. 2021;76(11):443–50. Available from: <https://www.degruyterbrill.com/document/doi/10.1515/znc-2021-0002/html>
 27. Hirota K, Yumoto H, Sapaar B, Matsuo T, Ichikawa T, Miyake Y. Pathogenic factors in *Candida* biofilm-related infectious diseases. *J Appl Microbiol.* 2017;122(2):321–30.
 28. Organization WH. Evidence and recommendations on oropharyngeal candidiasis - Guidelines on the Treatment of Skin and Oral HIV-Associated Conditions in Children and Adults - NCBI Bookshelf [Internet]. World Health Organization. 2014. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK305416/?utm_source=chatgpt.com

29. for the Prevention G, of Opportunistic Infections in Adults T, HIV AW. Candidiasis (Mucocutaneous) [Internet]. HIV Clinical Guidelines. 2024. Available from: <https://clinicalinfo.hiv.gov/en/guidelines/hiv-clinical-guidelines-adult-and-adolescent-opportunistic-infections/candidiasis>
30. Gao Y, Cao Q, Xiao Y, Wu Y, Ding L, Huang H, et al. The progress and future of the treatment of *Candida albicans* infections based on nanotechnology. *J Nanobiotechnology* . 2024;22(1).
31. A. D, Jo B-GM, Judi D, Peggy-Ann KD. Handbook of Medicinal Herbs, second edition [Internet]. 2nd ed. Handbook of Medicinal Herbs, second edition; 2002. 1–870 p. Available from: <https://dl.icdst.org/pdfs/files/01f9630b00422d531c3fb2a15681b291.pdf>
32. Lopes JP, Lionakis MS. Pathogenesis and virulence of *Candida albicans*. *Virulence* [Internet]. 2021;13(1):89–121. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/21505594.2021.2019950?needAccess=true>
33. Shara M, Stohs SJ. Efficacy and Safety of White Willow Bark (*Salix alba*) Extracts. *Phytother Res* [Internet]. 2015;29(8):1112–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25997859/>
34. Koo H, Rosalen PL, Cury JA, Park YK, Bowen WH. Effects of compounds found in propolis on *Streptococcus mutans* growth and on glucosyltransferase activity. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2002;46(5):1302–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11959560/>
35. Mathers MDAJ, II PJSL, Bryson PAL, Alby PK, Bobenchik PAM, Campeau PS, et al. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI M100 [Internet]. 2026;(36):436. Available from: <https://clsi.org/shop/standards/m100/>
36. Soni LMF, Burattini MN, Pignatari ACC, Gompertz OF, Colombo AL. Comparative study of agar diffusion test and the NCCLS macrobroth method for in vitro susceptibility testing of *Candida* spp. *Mycopathologia* [Internet]. 1999;145(3):131–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10685448/>
37. Bona E, Cantamessa S, Pavan M, Novello G, Massa N, Rocchetti A, et al. Sensitivity of *Candida albicans* to essential oils: are they an alternative to antifungal agents? *J Appl Microbiol* [Internet]. 2016 Dec 1 [cited 2026 Jan 30];121(6):1530–45. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27568869/>
38. Popova TP, Kaleva MD. Original Research Article Antimicrobial Effect in vitro of Aqueous Extracts of Leaves and Branches of Willow (*Salix babylonica* L.). 2015;4(10):146–52.
39. Benzaid C, Belmadani A, Djeribi R, Rouabhia M. The effects of mentha × piperita essential oil on *C. Albicans* growth, transition, biofilm formation, and the expression of secreted aspartyl proteinases genes. *Antibiotics*. 2019;8(1).
40. Marchese A, Arciola CR, Barbieri R, Silva AS, Nabavi SF, Sokeng AJT, et al. Update on monoterpenes as antimicrobial agents: A particular focus on p-cymene. *Materials* (Basel). 2017;10(8):1–15.
41. Daglia M. Polyphenols as antimicrobial agents. *Curr Opin Biotechnol* [Internet]. 2012;23(2):174–81. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958166911006756?via%3Dihub>
42. Oyedeji OO, Lawal OA, Shode FO, Oyedeji AO. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oils of *Callistemon citrinus* and *Callistemon viminalis* from South Africa. *Molecules*. 2009;14(6):1990–8.
43. Dalleau S, Cateau E, Bergès T, Berjeaud JM, Imbert C. In vitro activity of terpenes

- against *Candida* biofilms. *Int J Antimicrob Agents*. 2008;31(6):572–6.
44. Hacioglu M, Oyardi O, Kirinti A. Oregano essential oil inhibits *Candida* spp. biofilms. *Zeitschrift fur Naturforsch - Sect C J Biosci* [Internet]. 2021 Nov 1 [cited 2026 Jan 30];76(11):443–50. Available from: <https://www.degruyterbrill.com/document/doi/10.1515/znc-2021-0002/html>
 45. Ahmad A, Khan A, Akhtar F, Yousuf S, Xess I, Khan LA, et al. Fungicidal activity of thymol and carvacrol by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity against *Candida*. *Eur J Clin Microbiol & Infect Dis* 2010 301 [Internet]. 2010;30(1):41–50. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10096-010-1050-8>
 46. Yue D, Zheng D, Bai Y, Yang L, Yong J, Li Y. Insights into the anti-*Candida albicans* properties of natural phytochemicals: An in vitro and in vivo investigation. *Phyther Res* [Internet]. 2024;38(5):2518–38. Available from: [/doi/pdf/10.1002/ptr.8148](https://doi/pdf/10.1002/ptr.8148)
 47. Procop GW, Dufresne PJ, Berkow E. Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. CLSI Suppl M60. 2nd ed. 2020;40:1–12.
 48. Rodriguez-Canales M, Hernandez-Hernandez AB, Nava-Solis U, Rodriguez-Monroy MA, Canales-Martinez MM. Targeting *Candida albicans* Pathogenicity: A Multifactorial Approach Using *Lippia graveolens* Essential Oil. *Int J Mol Sci*. 2025;27(1):1–19.
 49. Kuhn DM, George T, Chandra J, Mukherjee PK, Ghannoum MA. Antifungal susceptibility of *Candida* biofilms: Unique efficacy of amphotericin B lipid formulations and echinocandins. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46(6):1773–80.

7. ANEXOS

SAUCE NEGRO

Tabla 6. Tabla de halos de inhibición sensibilidad del sauce negro al 25% con método de disco.

Muestra	Halo de inhibición	sensibilidad
1	22 mm	intermedio
2	18 mm	resistente
3	19 mm	intermedio
media	mm	

Tabla 7. Tabla de resultados de sensibilidad del sauce negro al 50% con método de disco.

Muestra	Halo de inhibición	sensibilidad
1	22 mm	sensible
2	19 mm	intermedio
3	20 mm	intermedio
media	mm	

MENTA

Tabla 8. Tabla de resultados de sensibilidad de aceite esencial de menta al 100% con método de disco.

Muestra	Halo de inhibición	sensibilidad
1	> 30 mm	sensible
2	> 30 mm	sensible
3	> 30 mm	sensible
media	30 mm	

CEPILLO

Tabla 9. Tabla de resultados de sensibilidad del aceite esencial de cepillo al 100% con método de disco.

Muestra	Halo de inhibición	sensibilidad
1	> 30 mm	sensible
2	> 30 mm	sensible

3	> 30 mm	sensible
media	30 mm	

ORÉGANO 1

Tabla 10. Tabla de resultados de sensibilidad del extracto del orégano al 100% con método de disco.

Muestra	Halo de inhibición	sensibilidad
1	27 mm	intermedio
2	23 mm	intermedio
3	23 mm	resistente
media	30 mm.	

FLUCONAZOL

Tabla 11. Tabla de resultados de sensibilidad del fluconazol primera muestra.

Muestra	halo de inhibición (mm)	sensibilidad
1	22 mm	resistente
2	26 mm	sensible
3	25 mm	sensible
media	mm	

Elaborado por: autores