



Universidad autónoma de Querétaro  
Facultad de Medicina  
Especialidad de Odontopediatría



"Comparación del efecto antimicrobiano del extracto de la raíz *Echinacea purpurea* en concentraciones de 25% y 50% contra el *Streptococcus mutans in-vitro*".

### **Tesis**

Que como parte de los requisitos para obtener el Diploma de la Especialidad en Odontopediatría

### **Presenta:**

C.D. Mariana Ortiz Rodríguez

### **Dirigido por:**

C.D.E.O. Laura Celeste Herrera Alaníz

Centro Universitario, Querétaro, Qro.

Abril 2021

México.



Universidad autónoma de Querétaro  
Facultad de Medicina  
Especialidad de Odontopediatría



“Comparación del efecto antimicrobiano del extracto de la raíz *Echinacea purpurea* en concentraciones de 25% y 50% contra el *Streptococcus mutans in-vitro*”.

**Tesis**

Que como parte de los requisitos para obtener el Diploma de la Especialidad en Odontopediatría

**Presenta:**

C.D. Mariana Ortiz Rodríguez

**Dirigido por:**

C.D.E.O. Laura Celeste Herrera Alaníz

**Sinodales:**

C.D.E.O. Laura Celeste Herrera Alaníz  
Presidente

L.O.E.O. Cynthia Castro Martínez  
Secretario

Dr. en C. Claudia Verónica Cabeza Cabrera  
Vocal

C.D.E.O. Héctor Mancilla Herrera  
Suplente

Dr. Rubén Abraham Domínguez Pérez  
Suplente



Centro Universitario, Querétaro, Qro.  
Abril 2021

México

## Resumen

**Introducción:** La cavidad oral humana alberga una comunidad compleja de diversos tipos de microorganismos, y estos comprenden varias especies de bacterias, hongos y protozoos normalmente es estable, pero en ciertas circunstancias pueden causar enfermedades dentales importantes, como caries y enfermedad periodontal.

Las personas en las zonas rurales, especialmente en la región de bosques tropicales del mundo, han utilizado plantas como parte de su sistema de atención primaria de salud durante milenios continuando hasta hoy en día, las plantas etnomedicinales son utilizadas para la cura de problemas dentales. **Objetivo:** Determinar cuál de los extractos presenta mayor efecto antimicrobiano contra microorganismos causantes de caries dental. **Material y métodos:** El diseño de este estudio es experimental *in-vitro*. El universo fue constituido por cajas Petri inoculadas con *Streptococcus mutans*, que contaron con criterios de inclusión, el tamaño de muestra fueron 10 cajas Petri donde se colocaron discos con 4 extractos para probar su eficacia antimicrobiana medida en la distancia generada por los halos de inhibición. Los análisis estadísticos utilizados fueron la prueba Kolmogorov-Smirnov con los que se verificó que las variables seguían una distribución normal, los datos se sometieron a la prueba ANOVA. Obteniendo como diferencia estadísticamente significativa  $p < 0.0001$ . **Resultados:** Se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre la actividad antimicrobiana reportada por el extracto de *Rosmarinus officinalis* en comparación a los extractos *Zanthoxylum fagara* y *Echinacea purpurea* al 25% y 50%. **Conclusiones:** El extracto de *Rosmarinus officinalis* (romero) presento mayor efecto antimicrobiano contra *Streptococcus mutans* que el extracto de *Zanthoxylum fagara*, *Echinacea purpurea* al 25% y 50%.

**Palabras clave:** Halo de inhibición, extracto.

## Summary

**Introduction:** The human oral cavity harbors a complex microbial community of diverse types of microorganisms, and these comprise several species of bacteria, fungi and protozoa. It is normally stable, but in certain circumstances it can cause important dental diseases, such as cavities and periodontal disease.

People in rural areas, especially in the tropical forest region of the world, have used plants as part of their primary health care system for millennia continuing to this day, ethnomedicinal plants in the form of chewy sticks that are used to the cure of dental problems. **Objective:** To determine which of the 25% or 50% concentrations of the *Echinacea purpurea* root has the greatest antimicrobial effect against *Streptococcus mutans* in vitro. **Material and methods:** The design of this study is experimental in vitro, cross-sectional and comparative. The universe study studied consisted of Petri dishes inoculated with *Streptococcus Mutans*, which had inclusion criteria, the sample size was 10 Petri dishes in which *Streptococcus Mutans* was seeded and subsequently sensidisks with 4 extracts were placed to test its efficacy against *S. Mutans* measured in the distance generated by the inhibition zone. The statistical analyzes used were the Kolmogorov-Smirnov test with which it was verified that the variables followed a normal distribution, the data were subjected to the ANOVA and Turkey tests. Obtaining as a statistically significant difference  $p < 0.0001$ . **Results:** There is a statistically significant difference in the *Rosmarinus officinalis* extract compared to the extracts of *Zanthoxylum fagara* at 50% and *Echinacea purpurea* at 25% and 50%. **Conclusions:** The extract of *Rosmarinus officinalis* (rosemary) presented greater antimicrobial effect against *Streptococcus mutans* than the extract of *Zanthoxylum fagara*, *Echinacea purpurea* at 25% and 50%.

**Key words:** Antimicrobial effect, inhibition zone, extract.

## Dedicatorias

Dedico este trabajo a mi familia, a esas personas que siempre estuvieron conmigo de mil maneras, que siempre me levantaban el ánimo en momentos difíciles y que por supuesto jamás me abandonaron en este largo camino. Mamá, mis dos Papás, hermanito, a Julio por ir de la mano conmigo en el camino, por enseñarme y hacer mis días más felices, esto es por y para ustedes.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

## **Agradecimientos**

Agradezco primeramente a mis profesores, que siempre tuvieron la paciencia y ese entusiasmo de compartir sus conocimientos, gracias por inspirarme a ser mejor estudiante, profesionista y mejor persona.

Agradezco a la Dra. Laura Celeste que siempre me brindó su apoyo y conocimiento, gracias por materializar este trabajo, a la Dr. Guillermo por la confianza de permitirme ser parte de la familia UAQ, al Dr. Rubén por todas las veces que tuvo paciencia de más para poder ayudarnos y dirigirnos.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo invaluable para esta meta.

Por último y no por eso menos importante, a esas 11 personas que más que ser mis compañeros de especialidad, se convirtieron en mi familia, siempre los llevaré en el corazón.

## Índice

### Contenido

Resumen .....	3
Summary.....	4
Dedicatorias.....	5
Agradecimientos.....	6
Indice .....	7
I. Introducción.....	9
II. Antecedentes.....	18
III. Fundamentación teórica.....	21
Hipótesis .....	22
V.objetivos .....	23
V.2 Objetivos específicos .....	23
VI. Material y métodos .....	24
VI.1 Tipo de investigación .....	24
VI.2 Población o unidad de análisis .....	24
VI.3 Muestra o tipo de muestra .....	24
VI.3.1 Criterios de selección .....	24
VI.3.2 Variables estudiadas .....	24
VI.4 Técnicas o instrumentos .....	25
VI.5 Procedimientos .....	25
VI.5.1 Análisis estadístico .....	29
VI.5.2 Consideraciones éticas .....	29
VII. Resultados .....	30
VIII. Discusión .....	32
IX. Conclusiones .....	34

X. Propuestas .....	35
XI. Bibliografía .....	36
XII. Anexos .....	39

Dirección General de Bibliotecas UAQ



## I. Introducción

La cavidad oral humana alberga una comunidad compleja de diversos tipos de microorganismos, y estos comprenden varias especies de bacterias, hongos y protozoos normalmente es estable, pero en ciertas circunstancias pueden causar enfermedades dentales importantes, como caries y enfermedad periodontal. Se sabe que las enfermedades dentales son el problema de salud más común en la población humana, siendo de gran importancia económica en todo el mundo, por lo tanto, los factores que afectan e influyen en la colonización microbiana de la boca, ha sido un tema de investigación considerable (Black, 1993).

### Caries dental.

La caries dental es una enfermedad multifactorial dinámica y crónica, que ocurre en la superficie de la estructura dental que se encuentra en contacto con los depósitos microbianos contenidos en la placa dentobacteriana y es debido al desequilibrio entre la sustancia dental y el fluido de placa dentobacteriana, causando así una pérdida de mineral de la superficie del esmalte, cuyo signo es la destrucción localizada de tejidos duros (Núñez y Bacallao, 2010).

### *Factores involucrados en el proceso de la caries dental.*

Se conoce que en la caries dental existen tres factores de interacción determinante: el huésped (higiene bucal, la saliva y los dientes), el microbiota bucal (infecciones bacterianas) y el sustrato (dieta cariogénica). Además de estos factores, un cuarto factor juega un papel crucial para la formación de caries dental el cual es el tiempo. Para que se forme una caries es necesario que las condiciones sean favorables; es decir, un huésped susceptible, una flora oral cariogénica y un sustrato apropiado que deberá estar presente durante un período determinado de tiempo (Riverón et al., 2006).

### *Factores relacionados con el huésped*

En relación al huésped, es necesario analizar las características de la saliva y la resistencia a la acción acidogena bacteriana (Riverón et al., 2006).

## Saliva

La saliva es una solución que contiene calcio y fosfato además también presenta flúor, proteínas, enzimas, agentes buffer, inmunoglobulinas y glicoproteínas, entre otros elementos importantes para evitar la formación de la caries dental (Cid et al., 2014).

El flúor se encuentra presente en muy bajas concentraciones en la saliva, pero desempeña un importante función en la remineralización, ya que al unirse con los cristales del esmalte, genera el compuesto fluorapatita, que es mucho más resistente al ataque ácido (Núñez y García, 2010).

La saliva es esencial para el balance ácido-base de la placa dental (Núñez y García, 2010).

Las bacterias generadoras de ácido metabolizan rápidamente a los hidratos de carbono y segregan ácido como producto final. El pH desciende rápidamente en los primeros minutos después de la ingestión de carbohidratos para incrementar gradualmente; se conoce que en 30 minutos debe regresar a sus niveles habituales. Para que esta función de produzca actúa el sistema buffer de la saliva, que incluye bicarbonato, fosfatos y proteínas. El pH salival depende de las concentraciones de bicarbonato; el aumento en la concentración de bicarbonato resulta un incremento del pH. Niveles bajos del flujo salival hacen que el pH disminuya por debajo de 5-3, sin embargo, aumenta a 7-8 si se acrecienta gradualmente el flujo salival (Hidalgo et al., 2008).

Ha sido estudiado también que las macromoléculas salivales están relacionadas con las funciones de formación de la bio-película salival. Al observar las funciones de las proteínas salivales ricas en prolina, se ha demostrado que estas interaccionan con la superficie del diente, y forman parte de una capa de proteínas que se deposita sobre el mismo, denominada película adquirida. La cual está involucrada en procesos importantes como la protección de la superficie dentaria, procesos como remineralización y la colonización bacteriana, entre otros (Riverón et al., 2006).

En la saliva además de proteínas, se han encontrado péptidos con actividad antimicrobiana, como, por ejemplo, las beta defensinas. Se considera que, además

de la defensa de la superficie de la cavidad bucal, pudieran inhibir la formación de la placa dental bacteriana y, por lo tanto, el desarrollo de la caries dental (Bazzano et al., 2007).

#### *Microflora*

Del gran número de microorganismos que se encuentra en la boca, los pertenecientes al género *Streptococcus* (*Streptococcus mutans* y *Streptococcus mitis*), se han asociado con la caries dental tanto en animales experimentales como en seres humanos.

Para comprender la acción de las bacterias en el inicio de la caries dental, es necesario estudiar los mecanismos por los cuales estos microorganismos colonizan la superficie dental y son capaces producir daño (virulencia) (Ogunshe y Odumesi, 2010).

El *Streptococcus mutans* produce una enzima dextrano -sucrasa, que convierte la sacarosa de los alimentos en dextrina, y la dextrina se combina con proteínas salivales para crear una película (placa) pegajosa e incolora en las superficies de los dientes. La placa proporciona el refugio para las actividades de los lactobacilos y estos producen ácido láctico, que ataca el esmalte al descalcificarlo. *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* son productores de ácidos fuertes y, por lo tanto, causan un ambiente ácido, creando el riesgo de caries. Varios factores, como la adherencia a las superficies del esmalte, la producción de metabolitos ácidos, la capacidad de acumular reservas de glucógeno y la capacidad de sintetizar polisacáridos extracelulares están presentes en la caries dental. Los azúcares simples, como la sacarosa, la fructosa, la lactosa, la galactosa y la glucosa, favorecen la colonización y el crecimiento de bacterias relacionadas con la caries, particularmente con *Streptococcus mutans* (Núñez y García, 2010).

### *Factores de virulencia*

En el caso del *Streptococcus mutans*, los factores involucrados en la producción de caries son:

1. Acidogenicidad: Puede fermentar los azúcares de la dieta para generar ácido láctico como producto final del metabolismo. Esto hace que descienda el pH y se cause desmineralización del esmalte dental.
2. Aciduricidad: Es la capacidad de producir ácido en un medio con pH ácido.
3. Acidofilicidad: El *Streptococcus mutans* puede sobrevivir a la acidez del medio bombeando protones (H<sup>+</sup>) fuera de la célula.
4. Síntesis de glucanos y fructanos: por medio de enzimas como glucosil y fructosiltransferasas (GTF y FTF), se producen los polímeros glucano y fructano, a partir de la sacarosa. Los glucanos insolubles pueden ayudar a la bacteria a adherirse al diente y ser usados como reserva de nutrientes.

El *Streptococcus mutans* secreta los tres tipos de glucosiltransferasas. Al producto de la GTF-I y la GTF-SI, con predominio alfa (1-3), se le denomina mutano. Su insolubilidad en agua, viscosidad y aspecto fibrilar, lo involucra en los fenómenos de adherencia, agregación y acumulación bacteriana en la placa dental.

De esta manera la capacidad de producir mutano, está involucrada en el poder cariogénico del *Streptococcus mutans* (Nwankwo, 2017).

El más virulento de estas especies es el *Streptococcus mutans*, que se ha descubierto que es el iniciador de la mayoría de las caries dentales y que es una bacteria transmisible que puede transmitirse tanto horizontal como verticalmente (Nwankwo, 2017).

### *Colonización bacteriana*

El paso más importante para que se produzca la caries, es la adhesión inicial de la bacteria a la superficie del diente. Esta adhesión está mediada por la interacción entre una proteína del microorganismo y algunas de la saliva que son adsorbidas por el esmalte dental (Dávila et al., 2006).

Para la colonización bacteriana, es imprescindible la formación previa de una fina película de proteínas salivales sobre la superficie del diente: la película adquirida (Díaz y González, 2010).

La interacción se produce en cierta medida a través de cargas electrostáticas. La carga eléctrica de las proteínas se relaciona con la presencia de grupos ionizables en sus aminoácidos constituyentes (Díaz y González, 2010).

Estudios recientes indican que la unión de las bacterias a la película adquirida y entre sí, no puede ser explicada solamente por uniones electrostáticas, sino que se ha evidenciado la acción de moléculas de naturaleza proteica en la superficie de las bacterias, denominadas adhesinas, que se unen a las proteínas salivales las cuales actúan como receptores y facilitan la adherencia bacteriana. Esto es posible por el fenómeno de reconocimiento molecular. Se ha observado que mientras mayor es la capacidad de adherencia del microorganismo, mayor es la experiencia de caries dental (Dávila et al., 2006).

Concluyendo que la caries es el signo de la enfermedad y no la enfermedad per se. A pesar de los avances en la ciencia de la enfermedad oral, la caries dental sigue siendo un problema de salud en todo el mundo y afecta a los seres humanos de todas las edades, especialmente a los niños donde la enfermedad de la caries está en aumento (Kidd y Fejerskov, 2004). A nivel mundial, los niños pierden 51 millones de horas de clases cada año debido a una caries dental. Sus efectos negativos sobre la población humana son de gran alcance. Estos van desde la pérdida de dientes a serios problemas de salud. A nivel mundial, alrededor del 30% de las personas de 65 a 74 años no tienen dientes naturales (Núñez y García, 2010).

Solo el 41% de los europeos todavía tienen todos sus dientes naturales. Los investigadores han encontrado que las personas con enfermedad periodontal tienen casi el doble de probabilidades de padecer enfermedad en arterias coronarias que aquellas sin enfermedad periodontal (Núñez y García, 2010).

Han sido amplios los estudios de sustancias químicas y naturales que buscan reducir el nivel de caries dental por diferentes vías, una de las más comunes es el

intento de generar lisis bacteriana evitando la producción de ácidos por parte de los mismos. Las sustancias herbolarias de origen natural han resultado exitosas para este fin (He, 2015).

#### *Etnobotánica.*

La etnobotánica o fitoterapia es la ciencia que estudia la relación entre los seres humanos y los vegetales. Su principal objetivo es el conocimiento sobre las plantas y las utilidades en la cultura popular tradicional (Santayana, 2003).

El uso de ciertas hierbas con fines terapéuticos en estomatología ha persistido actualmente, a pesar de los avances registrados en el campo de la terapia farmacológica o alopática (Ríos et al., 2017). Existen referencias sobre el uso de plantas con uso medicinal desde la época prehispánica entre los mayas; en el caso de las enfermedades bucodentales, existe gran registro del uso de las mismas usadas como terapia, ya sea como alternativa o como complemento a la terapia farmacológica en estomatología, de más de treinta especies vegetales. Esta terapia herbolaria se ha considerado doméstica puesto que, para recomendar su uso por parte de individuos o familias, no se requiere de conocimientos especializados acerca de sus indicaciones para aliviar enfermedades bucodentales más comunes, como caries y enfermedad periodontal (Hostnig y Vásquez, 1998).

#### *Echinacea violeatum.*

El género *Echinacea* (Asteraceae) comprende un pequeño número de especies que son plantas herbáceas perennes resistentes, nativas de partes de América del Norte. Tres de las especies, *Echinacea angustifolia* Hell., *Echinacea pallida* Nutt. y *Echinacea purpurea* Moench, se utilizan médicamente (Barnes et al., 2005).

Los productos comerciales de *Echinacea purpurea* pueden contener uno o más de estos medicamentos crudos, obtenidos de diferentes áreas geográficas, y están disponibles en una variedad de formas de dosificación, que incluyen tinturas, tabletas, tés, cápsulas y preparaciones para uso parenteral (Leonti et al., 2002). La diversidad fitoquímica entre los diferentes productos de la *Echinacea purpurea* dificulta la interpretación de los resultados de la investigación farmacológica y

clínica. La *Echinacea purpurea* tiene una larga historia de uso medicinal para una amplia variedad de afecciones, principalmente infecciones, como sífilis y heridas sépticas, pero también como " antitoxina " para mordeduras de serpientes y envenenamiento de la sangre (Jager et al., 2002).

#### *Fitoquímica.*

Existen algunas diferencias en los componentes de la *Echinacea* entre las especies y sus respectivas partes de la planta. Se atribuye su efecto, varios grupos de constituyentes (las alcanidas, los derivados del ácido cafeico, los polisacáridos y los alquenos (como los polienos) parecen contribuir a la actividad (Bauer, 1998).

Al menos 20 alcanidas están presentes, principalmente isobutilamidas de ácidos grasos de cadena lineal con enlaces olefínicos y / o acetilénicos.

#### *Zanthoxylum Fagara*

*Zanthoxylum xanthoxyloides*, perteneciente a la familia Rutaceal y el orden Rurales consta de 9 géneros, y alrededor de 28 especies se encuentran en el mosaico de la sabana forestal de la selva baja y, a veces, también abundan en las zonas costeras, donde las raíces se utilizan tradicionalmente como masticar palos para el dolor dental y para mantener la salud oral entre las poblaciones indígenas.

La planta *Zanthoxylum caribaeum* Lam pertenece a la familia *Rutaceae*, con más de 500 especies, tiene distribución mundial principalmente en regiones tropicales y subtropicales. *Z. caribaeum* es conocido popularmente como "espinho-preto" y ha sido ampliamente utilizado por la población por sus propiedades antiinflamatorias (Villalba et al., 2007).

*Zanthoxylum zanthoxyloides* tiene una amplia relevancia etnofarmacológica, las propiedades antibacterianas y analgésicas juegan un papel sinérgico en el alivio de la caries dental y dolor dental (Nwankwo, 2017).

### *Rosmarinus officinalis*

El *Rosmarinus officinalis* (romero) corresponde a la familia *Labiatae* (Labiadas), crece en la costa mediterránea. Se encontraron en el Perú y se cultiva en la costa, sierra y selva hasta 3.500 metros de altura sobre el nivel del mar. Sus características son: hojas lineares, coriáceas, de color verde, tubular y enérgico aroma agradable, su tamaño es de 1,50 m. Sus hojas y tallos son utilizados en infusiones, en la comida y en fines medicinales (Hostnig y Vásquez, 1998).

Goza de propiedades antiespasmódicas, antiinflamatorias, antisépticas, antifúngicas y antibacterianas. Con los estudios ejecutados se ha revelado que existe un poder de inhibición del crecimiento de bacterias y las síntesis de glucano, lo que conlleva el uso del romero como un buen coadyuvante en el control de las bacterias vinculadas con la caries dental (Hostnig y Vásquez, 1998).



## **Pregunta de investigación**

¿Cuál de los extractos *Echinacea purpurea* al 50%, *Zanthoxylum fagara* al 50%, *Rosmarinus officinalis* al 50% o *Echinacea purpurea* al 25% produce mayor efecto antimicrobiano contra *Streptococcus mutans in vitro*?

## **Justificación**

Los motivos que me llevaron a investigar los extractos se centra en el sector indígena mexicano, donde es común el uso de plantas medicinales, conocimientos que como clínicos e investigadores hemos dejado en el olvido sin resaltar la importancia de la fitoterapia que es base de la ciencia farmacéutica actual, y en la cual podemos profundizar encontrando nuevas alternativas contra microorganismos patógenos causantes de diversas enfermedades; Por su parte la estomatología ciencia de constante evolución en tratamientos y tecnología aplicada a devolver la salud oral se abre a la investigación y aplicación de la fitoterapia como un posible tratamiento llevando así conocimiento a los clínicos para mejorar los tratamientos dentales preventivos, promover salud y bienestar a la población donde se desempeñan, así mismo, actualmente existe una creciente tendencia hacia los productos con bases naturales por parte de los padres jóvenes, lo cual es un área de oportunidad, para introducir nuevos productos que cumplan sus expectativas de ingredientes naturales y a su vez sean efectivos contra patógenos de la cavidad oral, protegiendo a la generación más joven.

Es importante dar a conocer el efecto antimicrobiano que presentan estos extractos sobre el *Streptococcus mutans*; así con este estudio se podrá abrir un campo de investigación para utilizar estos extractos como enjuague bucal o barniz previniendo la caries dental.

## II. Antecedentes

Existe gran número de literatura científica sobre las actividades farmacológicas de las especies de *Echinacea* basada en estudios *in vitro* e *in vivo* (animales).

Las investigaciones se han centrado en investigar la actividad inmunomoduladora de las preparaciones de *Echinacea purpurea*, aunque también se han explorado otras actividades como las propiedades antivirales, antifúngicas, antiinflamatorias y antioxidantes (Nogueira et al., 2014).

Los efectos que los preparados de *Echinacea* causa sobre el sistema inmunitario puede desempeñar un papel coadyuvante a las células de este sistema (Ríos et al., 2017).

La mejora en la función de los macrófagos se ha documentado en diversas preparaciones de *Echinacea in vitro* e *in vivo* en estudios que utilizan una variedad de métodos, como la prueba de eliminación de carbono y la medición de la producción de citocinas, como indicadores de la actividad de los macrófagos (Jacobson, 2016). Los experimentos *in vitro* con macrófagos humanos descubrieron que el jugo fresco prensado y el jugo seco de las partes aéreas de *Echinacea purpurea* estimulaban la producción de citocinas, incluidas la interleucina (IL -1, IL-10) y el factor de necrosis tumoral (TNF-) (Jager et al., 2002). Otros estudios han informado que los polisacáridos purificados de *Echinacea purpurea* indujeron la producción de IL-1 por macrófagos (Bauer, 1998), y que un arabinogalactano de polisacárido aislado de cultivos de células vegetales de *Echinacea purpurea* indujo la producción de TNF e interferón 2 por murino macrófagos (Luettig et al., 1989).

En otra serie de experimentos *in vitro*, *Echinacea purpurea* indujo la activación de macrófagos (según lo evaluado por la producción de TNF) después de la digestión simulada (incubación de *Echinacea* con líquido gástrico) en un intento de imitar los efectos después de la administración oral (Rininger et al., 2000).

Así mismo otro trabajo ha demostrado que el polvo de raíz seca de *Echinacea purpurea* que contiene 1,5% de polifenoles totales, calculado como ácido clorogénico aumentó la resistencia de los linfocitos esplénicos a la apoptosis (Cañigüeral y Vanaclocha, 2010).

Por otro lado, los estudios de la raíz *Zanthoxylum fagara* han sido amplios y extensos como se muestra a continuación.

Nwankwo (2017) descubrió que *Zanthoxylum zanthoxyloides* tiene una amplia relevancia etnofarmacológica, mediante un estudio donde extractos de la planta se probaron frente a cuatro aislados clínicos: *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus spp* y *Staphylococcus aureus*.

El extracto de la raíz de *Zanthoxylum zanthoxyloides* mostró una actividad significativa contra *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus spp* y *Candida albicans*, pero los *Staphylococcus aureus* fueron resistentes al extracto. El extracto de *Zanthoxylum zanthoxyloides* demostró una excelente actividad antimicrobiana contra microorganismos clave implicados en la caries dental y la candidiasis oral. (Nwankwo, 2017).

Ogunshe y Odumesi (2010) decidieron realizar estudios *in vitro* e *in vivo* para evaluar el potencial antimicrobiano de cuatro palitos masticables indígenas nigerianos y comparar los efectos orales de los palitos masticables entre ellos, la raíz de *Zanthoxylum fagara*, con pastas dentales y otros productos de limpieza dental; ante un total de 21 y 17 cepas bacterianas orales aisladas de caries dentales de niños y adultos, respectivamente.

Ogunshe y Odumesi (2010), en su estudio buscaban que la raíz de *Zanthoxylum fagara* pudiera ser usada por nativos en su forma natural para limpieza dental y preventivo anticariogénico, sin embargo, los resultados obtenidos revelaron que las pastas dentales registraron las tasas más altas de inhibición contra los aislados de caries dental.

Por lo que concluyeron que la raíz *Zanthoxylum fagara*, tiene efecto antimicrobiano contra microorganismos causantes de caries dental al ser utilizado en forma de extracto o aceite esencial, al intentar utilizarlo como palito masticable, presenta un efecto sin relevancia estadísticamente significativa.

Los estudios realizados con *Rosmarinus officinalis* no han sido tan extensos sin embargo presentan resultados significativos con bacterias orales.

Hickl (2018) investigó la actividad antimicrobiana de los extractos de hierbas mediterráneas *Cistus creticus*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis* y *Thymus longicaulis*, en contra de microorganismos orales representativos. En singular el *Rosmarinus officinalis* evidenció la mayor actividad antibacteriana.

Tardugno (2018) evaluó la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales contra microorganismos circunscritos en las enfermedades orales como el *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus*. Seleccionó catorce aceites esenciales: *Rosmarinus officinalis*, *Eucaliptus globulus*, *Mentha arvensis*, *Salvia officinalis* y *Thymus vulgaris*. La cantidad de clorhexidina requerida para inhibir el crecimiento bacteriano se redujo en asociación con los extractos, pero singularmente en combinación con el *Rosmarinus officinalis*, *Thymus capitatus* and *Tihymus vulgaris*, también en este caso se contempló un efecto de sinergismo.

Oliveira (2017) Demostró que el extracto de *Rosmarinus officinalis* contribuyó eficazmente al control *in vitro* de importantes especies de microorganismos como *Candida albicans*.

### III. Fundamentación Teórica.

#### Caries dental

La caries dental es una enfermedad multifactorial originada por la interacción de tres factores principales: el huésped (higiene bucal, la saliva y los dientes), la flora bucal (infecciones bacterianas) y el sustrato (dieta cariogénica).

De los diferentes microorganismos que se encuentran en la cavidad bucal, los microorganismos pertenecientes al género *Streptococcus* (*Streptococcus mutans* y *Streptococcus mitis*), se han asociado como principales causantes de la caries dental; El factor más importante para que se produzca la caries dental, es la adhesión inicial de la bacteria a la superficie del diente. Esta adhesión está mediada por la interacción entre una proteína del microorganismo y algunas proteínas de la saliva que son captadas por el esmalte dental (Núñez y Bacallao, 2010).

Durante el paso del tiempo, se han estudiado diferentes sustancias capaces de reducir, tanto a las bacterias causantes de la caries dental como la adherencia que estas tienen al esmalte dental,

Existen referencias sobre el uso de plantas con fines medicinales desde la época prehispánica.

Las plantas de uso medicinal se estudian a través de la obtención de los principios activos lo cual se le llama extracción.

Los principios activos son los componentes de las plantas que tienen un efecto benéfico en el ser humano y en ocasiones pueden causar lisis bacteriana.

Tales efectos son gracias a sus componentes, los cuales se dividen en orgánicos e inorgánicos (agua y minerales). Dentro de los componentes orgánicos encontramos metabolitos primarios y secundarios, dentro de los metabolitos secundarios se destacan para este estudio los derivados fenólicos que contienen alcaloides y flavonoides, los cuales se ha demostrado en diferentes estudios que contienen propiedades antibióticas y antifúngicas (Hostnig y Vásquez, 1998).

#### IV. Hipótesis

##### **Hipótesis de trabajo.**

El extracto de la raíz de "*Echinacea purpurea*" en concentración al 50% muestra mayor efecto antimicrobiano que los extractos de "*Zanthoxylum fagara*" al 50%, "*Rosmarinus officinalis*" al 50% y el mismo extracto de "*Echinacea purpurea*" en concentración al 25% contra *Streptococcus mutans in vitro*.

##### **Hipótesis Nula.**

El extracto de la raíz de "*Echinacea purpurea*" en concentración al 25% tiene mayor efecto antimicrobiano que el extracto de "*Echinacea purpurea*" en concentración del 50%, el extracto de "*Zanthoxylum fagara*" al 50%, el extracto "*Rosmarinus officinalis*" al 50% en cultivos de *Streptococcus mutans in vitro*.

## V. Objetivos

### V. 1 Objetivo general

Determinar cuál de los extractos; *Echinacea purpurea* al 25% o 50%, *Zanthoxylum fagara* al 50%, *Rosmarinus officinalis* al 50% presenta mayor efecto antimicrobiano contra *Streptococcus mutans in vitro*.

### V.2 Objetivos específicos

- Medir el halo de inhibición del extracto de la raíz "*Echinacea purpurea*" en concentración de 25% en cultivos de *Streptococcus mutans in vitro*.
  - Medir el halo de inhibición del extracto de la raíz "*Echinacea purpurea*" en concentración de 50% en cultivos de *Streptococcus mutans in vitro*.
  - Medir el halo de inhibición del extracto de la raíz "*Zanthoxylum fagara*" en concentración de 50% en cultivos de *Streptococcus mutans in vitro*.
  - Medir el halo de inhibición del extracto de la hierba "*Rosmarinus officinalis*" en concentración de 50% en cultivos de *Streptococcus mutans in vitro*.
- 
- Comparar cuál de los de los extractos en las diferentes concentraciones presenta mayor diámetro de halo de inhibición en cultivos de *Streptococcus mutans*.

## **VI. Material y métodos**

### **V.1 Tipo de investigación**

Experimental *in vitro*.

### **VI.2 Unidad de análisis**

Cajas Petri con agar tripticasa soya inoculadas con *Streptococcus mutans* y discos impregnados con los diferentes extractos naturales.

### **VI.3 Criterios de selección**

Cajas Petri sembradas en monocapa con *Streptococcus mutans*

#### **VI.3.1 Criterios de inclusión**

Cajas Petri sembradas en monocapa con *Streptococcus mutans* correctamente con los discos impregnados en su totalidad con los diferentes extractos.

#### **VI.3.2 Criterios de exclusión**

Cajas Petri que no cumplan con la siembra correcta en monocapa de *Streptococcus mutans* o sufran contaminación con otros microorganismos.

#### **VI.3.3 Criterios de eliminación**

Cajas Petri que sufran algún daño durante el periodo de experimentación y/o contaminación de otro microorganismo.

#### **VI.3.4 Variables estudiadas**

##### **Variables dependientes**

Halo de inhibición formado por los diferentes extractos.

##### **Variables independientes**

Disco impregnado con digluconato de clorhexidina al 15%



Disco impregnado con extracto de la raíz *Echinacea purpurea* al 25%

Disco impregnado con extracto de la raíz *Echinacea purpurea* al 50%

Disco impregnado con extracto de *Rosmarinus officinalis* al 50%

Disco impregnado con extracto de la raíz *Zanthoxylum fagara* al 50%

#### **VI.4 Técnicas**

Se incubaron las cajas Petri con cultivos de *Streptococcus mutans* en agar TYS20B, con los 6 discos. Cuatro discos embebidos con los 4 extractos, extracto de la raíz *Echinacea purpurea* al 25%, otro al 50%, extracto de la raíz *Zanthoxylum fagara* al 30%, extracto de *Rosmarinus officinalis* al 50%. Un sexto disco con clorhexidina al 2% y el control negativo; agua inyectable.

A las 24 horas se tomaron fotografías de las cajas Petri para poder realizar la medición de los halos de inhibición con el programa ImageJ. Las mediciones fueron recopiladas en una base de datos de Excel.

#### **VI.5 Procedimientos**

##### **Preparación de Agar TYS20B**

Para obtener 10 cajas:

1. Se pesaron 10 gramos de Agar TRYS20B, 2.5 gramos de extracto de levadura, 50 gramos de sucrosa, en una báscula analítica (Fig. 1a).

Se colocaron en un matraz Erlen Meyer de 500 mL.

2. Se midieron 250 mililitros de agua destilada y se agregó al matraz donde se encontraba el agar y el resto de los polvos (Fig. 1b).
3. Se agitó y se dejó reposar 15 minutos.

4. Se calentó hasta obtener su punto de ebullición con agitación constante para disolverlo completamente por un minuto (Fig. 1c).
5. Se esterilizó la solución en autoclave a 121 °C (15lbs de presión) durante 15 minutos.
6. Se dejó enfriar la solución y se añadió en un medio estéril 61 µL de Bacitracina.
7. Se vació el medio en cajas Petri estériles (en un área estéril), hasta que solidificaron (Fig. 1d).
8. Se colocó una de las cajas en incubadora y las demás se almacenaron en refrigerador hasta el uso de éstas.

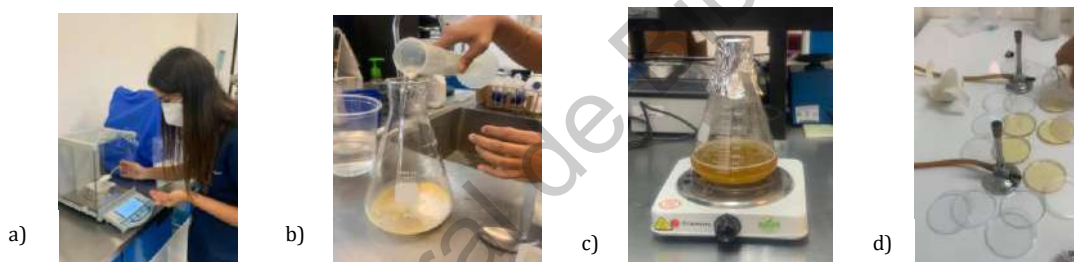


Fig. 1 Elaboración del agar tripticasa de soya

### Preparación de extractos

Se procesó la extracción del concentrado por parte del laboratorio Rosa Elena Dueñas S.a. de C.V. Laboratorio de remedios herbolarios.

1. Se necesitaron 500 g de la corteza de la raíz accionada de *Echinacea purpurea*, *Zanthoxylum fagara* y 500gr de *Rosmarinus officinalis*.
2. Se colocaron 500mg de la planta en un recipiente
3. Se vertió 500ml de n-hexano en un recipiente y se dejó actuar durante 12 horas con agitación intermitente.
4. Esto se decantó para obtener el filtrado.
5. Se introdujo disolvente fresco en la pulpa y se repitió el procedimiento anterior hasta que se realizó una extracción exhaustiva en 48 horas.

6. El filtrado se clarificó con un paño de muselina limpio.
7. Finalmente se filtró con papel de filtro Whatman.
8. Se dejó evaporar el disolvente y se obtendrá el extracto.
9. La pulpa se mantuvo para su uso posterior.

Usando la pulpa después del desgrasado, se usó metanol acuoso al 75% para extraer los componentes acuosos de la planta siguiendo el mismo método que en el proceso de desengrase.

10. Se dejó evaporar el disolvente y se obtuvo un extracto bruto.

### Técnica de siembra de cepas

1. Una vez gelificado el agar TYS20B en las placas Petri, con 2 mecheros de bunsen encendidos, se inició la siembra de las cepas a estudiar.
2. Se sumergió un hisopo en el tubo de cultivo líquido con *Streptococcus mutans* (Fig. 2a y b) y se colocó el inóculo en la caja con agar TYS20B, distribuyéndolo uniformemente sobre toda la superficie de la placa para lograr el crecimiento en monocapa (Fig. 2c).
3. En cada placa se colocaron 7 discos, (previamente estériles y con un diámetro de 6mm) los cuales contenían dilución seriada de los diferentes extractos más el control positivo (clorhexidina al 2%). Las placas se dejaron en la incubadora a una temperatura de 37°C por 24 horas (Fig.3).

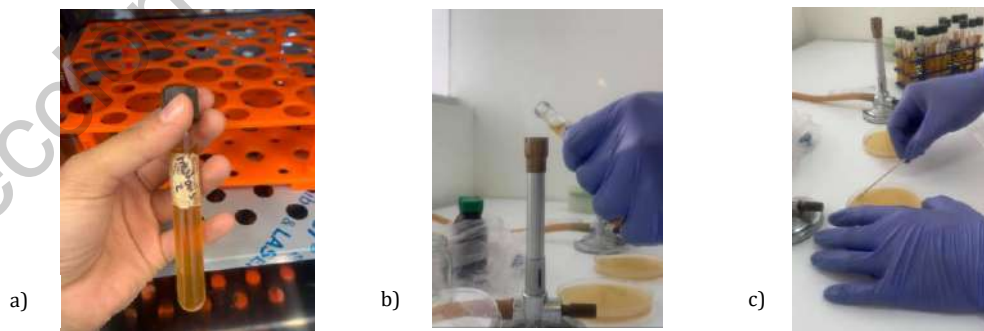
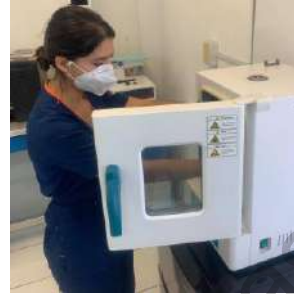


Fig. 2 Método de siembra directa por estría de *Streptococcus mutans*

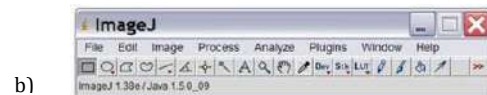
4. Se cerraron las placas y se colocaron dentro de la incubadora a 37 °C de temperatura por 24 horas. Después de este tiempo se tomaron fotografías para poder evaluar los resultados.



*Fig. 3 Incubación de placas con discos.*

### **Medición de halos de inhibición**

Posterior a la incubación por 24 horas de las placas con sus respectivos discos se procedió a tomar evidencia fotográfica de los resultados (Fig.4a). Dichas fotografías se analizaron por computadora con el programa ImageJ (Fig.4b). Posteriormente se recolectaron los datos obtenidos en una hoja de Excel.



*Fig.4 Medición de halos de inhibición.*

Como parte del protocolo las placas utilizadas se sometieron a un ciclo de esterilización en autoclave 121 °C por 15 min para su inactivación y posterior desecho.

### **VI.5.1 Análisis estadístico**

Se analizaron los datos de desviación estándar y rango. Con la prueba Kolmogorov-Smirnov se verificó que las variables seguían una distribución normal, los datos se sometieron a la prueba ANOVA. Obteniendo como diferencia estadísticamente significativa  $p < 0.0001$ .

### **VI.5.2 Consideraciones éticas**

El manejo de los desechos se realizó según lo dictado en la NOM-087-ECOL-SSA1, aplicando los siguientes pasos:

1. Los cultivos de agentes infecciosos, que son las cajas Petri y los instrumentos para manipular, mezclar o inocular microorganismos fueron recolectados en recipientes específicos rotulados y llevados al área de generación del laboratorio de análisis clínico y bacteriológico de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Querétaro.
2. Las cajas Petri e isopos contaminados se colocaron en una autoclave a  $121^{\circ}\text{C}$ , 1.1 atmósferas por 15 minutos y se dejó enfriar por 30 minutos.
3. Todo el material previamente esterilizado, se selló con cinta y se tiró en una bolsa roja, rotulando la siguiente información: peso, contenido, fecha y persona responsable.
4. El manejo externo de los desechos biológicos fue efectuado por una empresa especializada que trabaja en conjunto con la Universidad Autónoma de Querétaro.

## VII. Resultados

Esta investigación tomo como propósito el indagar si los extractos naturales de raíces y hierbas tienen capacidad antimicrobiana en específico con el *Streptococcus mutans*, microorganismo de interés para los odontólogos ya que es factor de origen de la caries dental. Este estudio se realizó mediante la medición de los halos de inhibición formado por los distintos extractos en los cultivos de *Streptococcus mutans*, permitiéndonos obtener los siguientes resultados (Fig.5).

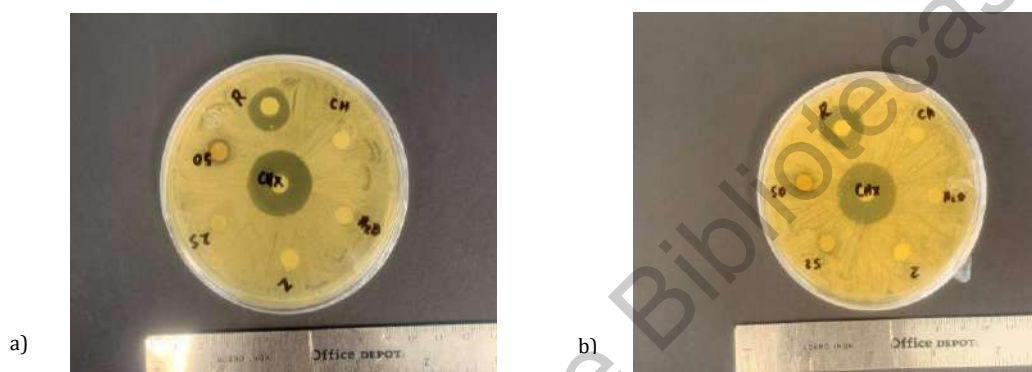


Fig.5 Halos de inhibición formados por los extractos.

Posterior a la recolección de datos se registró la información en Excel, para organizar y realizar las tablas y gráficos que se muestran a continuación.

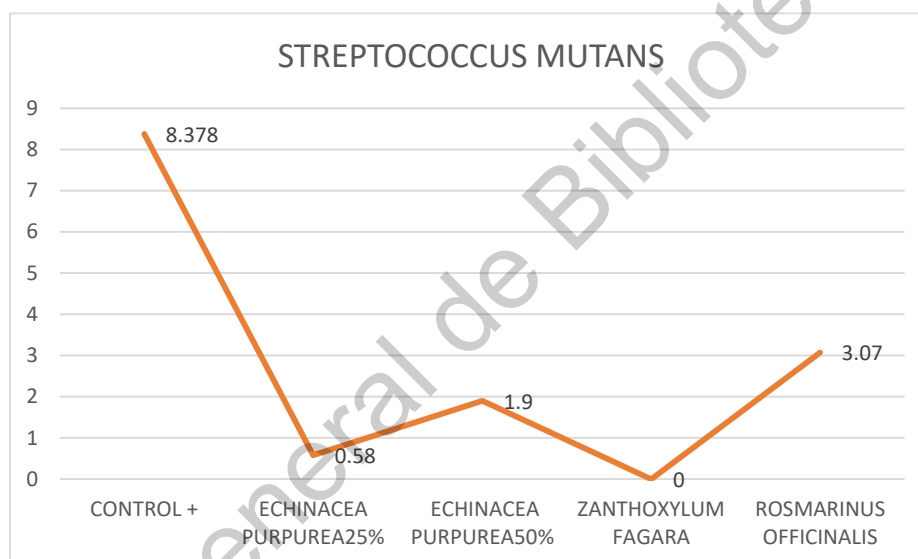
Tabla 1. Medida de halos de inhibición de los diferentes extractos naturales.

GRUPO	CONTROL (n=10)	ECHINACEA PURPUREA 25% (n=10)	ECHINACEA PURPUREA 50% (n=10)	ROSMARINUS OFFICINALIS (n=10)	ZANTHOXYLUM FAGARA (n=10)	VALOR DE P
	<i>Media ± D.E.</i>					
	<i>(Rango)</i>					
STREPTOCOCCUS MUTANS	8.378± 0.57 (7.50-9.30)	0.58± 0.47 (0-1.60)	1.9 ± 1.00 (1.00-3.80)	3.07 ± 1.29 (1.70-5.20)	0± 0 (0-0)	<0.0001

Medida reportada en milímetros; D.E.: Desviación estándar.

La tabla 1 muestra la media y desviación estándar de cada variable posterior a 24 horas de la siembra y aplicación de los discos impregnados de los extractos. Valorando los resultados encontramos que el extracto de *Zanthoxylum fagara* al 50% presento nula inhibición ( $0\pm 0$ ) frente a *Streptococcus mutans* reflejando una diferencia estadísticamente significativa con el extracto de *Rosmarinus officinalis* al 50% y a extracto de *Echinacea purpurea* al 50%, los cuales también presentan una diferencia estadísticamente significativa entre sí. El extracto de *Zanthoxylum fagara* y *Echinacea purpurea* al 25% no muestran una diferencia significativamente estadística.

Gráfico 1. Media de halo de inhibición en milímetros, generado por los diferentes extractos.



En el gráfico 1 observamos la actividad antimicrobiana generada por los diferentes extractos sobre *Streptococcus mutans*, reportada en promedio de milímetros de halos de inhibición; el grupo control positivo clorhexidina presento mayor actividad antimicrobiana, con un promedio de inhibición de 8.37mm, por su parte el extracto de Romero (*Rosmarinus officinalis*) fue el que presento mayor promedio inhibición que los demás extractos con 3.07mm.

## VIII. Discusión

En los últimos años se ha reportado una tendencia creciente por el consumo de productos saludables principalmente los que presentan características como estar libres de azúcar, de conservadores y de saborizantes. Por su parte las comunidades y pueblos indígenas, ingieren productos naturales y suelen utilizar la medicina herbolaria como primera línea ante las enfermedades presentadas (Luettig et al., 1989).

Los flavonoides encontrados en raíces y hierbas son compuestos que son esenciales para la salud humana, como lo demuestra su influencia en una serie de conclusiones relacionadas con sus funciones bioquímicas y fisiológicas en el cuerpo, identificándose con los potentes efectos antioxidantes en condiciones *in vitro* e *in vivo* después de su consumo. Estas propiedades antioxidantes se han relacionado con un aumento en las concentraciones de epicatequina en el plasma, la relajación vascular endotelio- dependiente promovido por los flavonoides, en parte debido a la mayor biodisponibilidad de óxido nitroso y la prostaciclina y las propiedades anti ateroscleróticas del óxido nitroso en combinación con un cambio favorable hacia la vasodilatación y de conferir además un efecto vascular-protector. Se puede detectar una disminución en la presión arterial después del efecto de corto plazo en el consumo de cacao en la presencia de una leve hipertensión sistólica (Luettig et al., 1989). Dichas sustancias en numerosos estudios han presentado propiedades antibacterianas, lo cual fue esencial para la naturaleza de este estudio, que busca alternativas naturales para combatir bacterias causantes de la caries dental.

El *Rosmarinus Officinalis* (romero) por sus principios activos, en especial los terpenoides encontrados en el aceite esencial de sus hojas poseen actividad antimicrobiana. Por lo cual fue considerado en el presente estudio (Araújo, et al, 2008); manifiesta en su investigación que se ha confirmado que extracto lico *Rosmarinus officinalis* posee amplia actividad antimicrobiana frente a un sin número de bacterias orales, por lo cual se decidió incluirlo en el estudio, confirmando que



es el extracto que mayor potencia antimicrobiana posee frente *Streptococcus mutans*.

Fue reportado en múltiples estudios la efectividad del extracto de la raíz *Zanthoxylum fagara* como lo reporta Nwankwo (2017); El extracto de *Zanthoxylum zanthoxyloides* ha demostrado una excelente actividad antimicrobiana contra microorganismos clave implicados en la caries dental y la candidiasis oral. También tiene una importante actividad nociceptiva, esto ha dado evidencia científica a los usos etnobotánicos de *Zanthoxylum zanthoxyloides* en el tratamiento de la caries dental, el dolor de muelas y la candidiasis bucal; sin embargo, en este estudio no presentó actividad antimicrobiana en contra de *Streptococcus mutans*.

Por último, el extracto de *Echinacea purpurea* al 50% también mostro una importante actividad antimicrobiana contra el *Streptococcus mutans*, los ensayos clínicos de extractos con *Echinacea* se han centrado en evaluar los efectos para prevenir y tratar el resfriado común y otras infecciones urinarias; algunos estudios preliminares habían explorado los efectos de la *Echinacea* en otras infecciones, como el herpes genital, y como tratamiento complementario en la quimioterapia contra el cáncer. La justificación del uso de la *Echinacea* en estas condiciones se basa en su actividad inmunomoduladora (Ríos et al., 2017). Los resultados de los estudios de *Echinacea* fueron difíciles de interpretar, ya que los estudios han evaluado preparaciones que contienen diferentes especies de *Echinacea* y / o diferentes partes de plantas de *Echinacea* (Ríos et al., 2017). Sin embargo, en este estudio se probó contra *Streptococcus mutans*, un microorganismo contra el cual no se había probado su actividad, lo cual puede abrir una nueva línea de investigación.

## IX. Conclusiones

- El extracto de *Rosmarinus officinalis* (romero) presento mayor efecto antimicrobiano contra *Streptococcus mutans* que el extracto de *Zanthoxylum fagara*, *Echinacea purpurea* al 25% y 50%.
- El extracto de *Zanthoxylum fagara* no presento efecto antimicrobiano contra *Streptococcus mutans*.
- No se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre el efecto del extracto *Zanthoxylum fagara* y extracto de *Echinacea purpurea* al 25%

Dirección General de Bibliotecas UAQ

## X. Propuestas

El uso de los extractos de origen natural es una alternativa al alcance de la población que busque la disminución de uno de los problemas de mayor impacto en la sociedad a nivel de salud pública como es la caries dental, es clave para el beneficio de esta. Al ser el extracto de romero el principal medio de inhibición del *Streptococcus mutans* se podrán desarrollar proyectos para realizar productos como colutorios, golosinas, chicles y/o pastas dentales. De igual manera se puede impulsar estudios para probar la efectividad de té e infusiones de romero con el fin de uso preventivo en sectores de baja economía, al estar en un mercado disponible para todas las personas, la población más vulnerable podría ser beneficiada y utilizar este método como un preventivo de caries dental.

Así mismo es un hecho que en la actualidad las personas buscan los productos orgánicos y naturales, por lo cual el conocimiento de la etnobotánica resulta una alternativa creciente para esta ideología y en la rama odontológica el poder brindarles a nuestros pacientes la información correcta y necesaria guiara a la población a la salud bucodental.

## XI. Referencias bibliográficas.

- Angel, M., Berber, R., & Molinar, Y. H. (2015). *Tratamiento endodóntico de dientes temporales con instrumentos rotatorios. Reporte de un caso.* (January).
- Barnes, J., Anderson, L. A., Gibbons, S., & Phillipson, J. D. (2005). Echinacea species ( Echinacea angustifolia (DC.) Hell., Echinacea pallida (Nutt.) Nutt., Echinacea purpurea (L.) Moench): a review of their chemistry, pharmacology and clinical properties . *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 57(8), 929–954.
- Bauer, R. (1998). Echinacea: Biological Effects and Active Principles. *ACS Symposium Series*, 691(7), 140–157.
- Cañigual, S., & Vanaclocha, B. (2010). Revista de Fitoterapia: Editorial. *Revista de Fitoterapia*, 10(2), 103.
- Dávila, M. E., Gil, M., Daza, D., Bullones, X., & Ugel, E. (2006). *Valero – Malaria in Colombia Caries Dental en Personas con Retraso Mental y Síndrome de Down.* 8(3), 207–213.
- de Souza, J. G. de L., Toledo, A. G., Santana, C. B., dos Santos, C. V., Mallmann, A. P., da Silva, J. P. B., & Pinto, F. G. da S. (2017). Chemical composition and antibacterial activity of essential oil and leaf extracts of *Zanthoxylum caribaeum* Lam. against serotypes of *Salmonella*. *Revista Brasileira de Saude e Producao Animal*, 18(3), 446–453.
- Díaz-Cárdenas, S., & González-Martínez, F. (2010). prevalencia de caries dental y factores familiares en niños escolares de cartagena de indias, Colombia. *Revista de Salud Publica*, 12(5), 843–851.
- He, S. A. (2015). Utilization and conservation of medicinal plants in China with special reference to *Atractylodes Lancea*. In *Medicinal Plants: Their Role in Health and Biodiversity*.
- Hidalgo-Gato Fuentes, I., De Estrada Riverón, J. D., & Pérez Quiñones, J. A. (2008). La caries dental. Algunos de los factores relacionados con su formación en niños. *Revista Cubana de Estomatología*, 45(1), 1–12.

- Hostnig, R., & Vásquez, L. (1998). *Etnobotánica MAM*. 72(1), 21–25.
- Jacobson, M. (2016). *Occurrence of a Pungent Insecticidal Principle in American Coneflower Roots Author ( s ): Martin Jacobson Published by: American Association for the Advancement of Science Stable*.
- Jager, H., Meinel, L., Dietz, B., Lapke, C., Bauer, R., Merkle, H. P., & Heilmann, J. (2002). *Transport of Alkamides from Echinacea Species through Caco-2*. 11–13.
- Kidd, E. A. M., & Fejerskov, O. (2004). What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *Journal of Dental Research*, 83(SPEC. ISS. C).
- Leonti, M., Sticher, O., & Heinrich, M. (2002). Medicinal plants of the Popoluca, México: Organoleptic properties as indigenous selection criteria. *Journal of Ethnopharmacology*, 81(3), 307–315.
- Nogueira, J., Mourão, S. C., Dolabela, I. B., Santos, M. G., Mello, C. B., Kelecom, A., ... Rocha, L. (2014). *Zanthoxylum caribaeum* (Rutaceae) essential oil: chemical investigation and biological effects on *Rhodnius prolixus* nymph. *Parasitology Research*, 113(11), 4271–4279.
- Núñez, D. P., & García Bacallao, L. (2010). Bioquímica de la caries dental. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 9(2), 156–166.
- Nwankwo, O. S. (2017). Aqueous Methanol Extract of the Root Bark of *Zanthoxylum Zanthoxyloides* Provides Natural Remedy for Dental Caries and Toothache. *World Journal of Pharmaceutical Research*, (July), 336–349.
- Ogunshe, A., & Odumesi, O. (2010). Users' perceptions and efficacy of indigenous adjunct teeth-cleansing agents on the bacterial flora of human dental caries. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 11(3), 182–194.
- Ríos Reyes, Á., Alanís Flores, G., & Favela Lara, S. (2017). Etnobotánica de los recursos vegetales, sus formas de uso y manejo, en Bustamante, Nuevo León. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 8(44).
- Riverón, J. D. D. E., Quiñonez, J. A. P., & Fuentes, I. H. G. (2006). Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar. *Revista Cubana*

*de Estomatología*, 43(1).

- Santayana, M. P. D. E. (2003). Dialnet-Etnobotanica-306731. *Anales Jardín Botánico de Madrid*, 60, 182.
- Solar, M. C. D. C. I. Q. del, & Rosa, M. Q. L. R. (2012). Efectividad de una pasta tri-antibiótica en pieza decidua necrótica con absceso periapical y fístula. *Odont. Sanmarquina*, 15(2), 31–34.
- Wharf, C., & Kingdom, U. (2011). *List of references supporting the assessment of Echinacea purpurea ( L .) Moench , radix*. 44(March 2010), 276–281.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

## XII. Anexos

### XII.1 Hoja de recolección

Placa	Echinacea Purpurea 25%	Echinacea purpurea 50%	Zanthoxylum fagara	Rosmarinus officinalis	Control +	Control -
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
Promedio						
Desviación Estándar						

### XII.2 Instrumentos

1. Placas Petri (Senna®, 60 x 15, producto previamente estéril)
2. Agar infusión tripticasa de soya en polvo (bhi®, Fco 500 gr)
3. Mechero de bunsen
4. Matraz de Erlenmeyer
5. Espátula de Digrafsky (Asa de siembra de vidrio)
6. Jarra de anaerobiosis
7. Puntas de papel para endodoncia N° 40 (Dentsply Maillefer)
8. Extracto de raíz *Echinacea purpurea* en diferentes concentraciones, extracto de *Rosmarinus officinalis*, extracto *Zanthoxylum fagara* (laboratorio de remedios herbolarios, fabricación de extractos y fluidos secos Rosa Elena Dueñas S.A. de C.V.)
9. Solución salina (PiSa®)

10. Mortero de vidrio
11. Cuchara dosificadora
12. Espátula
13. Loseta de vidrio
14. Termómetro
15. Guantes
16. Cuchara dosificadora
17. Cubre bocas.
18. Campos estériles
19. Bata de algodón
20. Gasas.
21. Lentes de protección
22. Vernier
23. Regla milimétrica
24. Plumón indeleble
25. Cronometro
26. Hipoclorito de sodio 2.5%



Dirección General de Bibliotecas UAQ