



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA

**Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroetanólico de
Heterotheca inuloides Cass. (Árnica) sobre *Eikenella corrodens*
ATCC BAA-1152**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

Cirujano Dentista

AUTORES:

Cornejo Recoba, Angel José (ORCID: 0000-0002-0129-2979)

Pinto Benel, Hania Aleksandra (ORCID: 0000-0003-0303-9376)

ASESORA:

Mg. Ibáñez Sevilla, Carmen Teresa (ORCID: 0000-0002-5551-1428)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Enfermedades infecciosas y transmisibles

PIURA – PERÚ

2021

Dedicatoria

A Dios, por haberme cuidado y permitido - a pesar de la pandemia - llegar a este momento importante de mi vida a nivel profesional.

A mis padres; *Fredy Pinto* y *Mery Benel*, por su apoyo incondicional, paciencia, preocupación y sobre todo, por su esfuerzo y sacrificio para lograr que sus hijos sean profesionales. No olvidaré jamás la frase “*El esfuerzo de hoy, será el descanso de mañana*”, dicha por mi padre para motivarnos a continuar aún frente a las adversidades; y los consejos y ejemplos de mi madre al verla amanecerse estudiando para su maestría, el aprender portugués...todo ello me hizo ver que los límites se los pone uno mismo.

A mi hermano *Freddy Albert*, quien es y será mi mejor mentor, mi ejemplo a seguir, y que - a pesar de la distancia - siempre me apoya y brinda la fortaleza para avanzar y cumplir mis metas.

Hania Alexsandra Pinto Benel

A Dios, por permitirme alcanzar este logro importante para mí y mi familia, en estos tiempos en que todo se hizo más difícil.

A mis padres, *Ángel Cornejo* y *Adelma Recoba*, por su paciencia y esfuerzo durante toda mi etapa universitaria, así como, sus ánimos en los momentos más complicados porque siempre estaban a mi lado apoyándome para ser profesional.

A mi hermano *Luis Enrique*, por ser mi compañero durante toda esta etapa universitaria y de la vida, por siempre entender todos los momentos de frustración y esfuerzo que hemos vivido ambos en esta etapa universitaria.

A mi abuela *Margarita*, porque siempre está pendiente de cómo me va en cada paso importante que doy en la vida. Agradecido con Dios porque a pesar de las circunstancias ella sigue a mi lado y podremos juntos vivir este momento importante.

Angel José Cornejo Recoba

Agradecimiento

A la Universidad César Vallejo, así como a la escuela de Estomatología por darnos esta valiosa oportunidad. A sus autoridades por estar siempre dispuestos a aclarar nuestras dudas con amabilidad y paciencia.

Al Dr. Mario León Ibarcena, por recibirnos con los brazos abiertos para realizar nuestra investigación, por su gran apoyo en nuestra preparación y valiosos consejos para el procesamiento microbiológico.

Al Dr. Xavier Sacca Urday, por su paciencia, guía y apoyo brindado tanto a nivel académico en nuestra etapa universitaria, como a lo largo del desarrollo de nuestra investigación.

A nuestra Asesora, Mg. Carmen Teresa Ibáñez Sevilla, por su total predisposición y orientación en cada clase para lograr con éxito la adecuación de nuestra tesis.

Índice de contenidos

Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Índice de contenidos	iv
Índice de tablas	v
Resumen.....	vi
Abstract.....	vii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	5
III. METODOLOGÍA.....	12
3.1. Tipo y diseño de investigación.....	12
3.2. Variables y operacionalización	12
3.3. Población (criterios de selección), muestra, muestreo, unidad de análisis.....	12
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	13
3.5. Procedimientos	13
3.6. Método de análisis de datos	16
3.7. Aspectos éticos.....	16
IV. RESULTADOS	17
V. DISCUSIÓN.....	21
VI. CONCLUSIONES.....	25
VII. RECOMENDACIONES	26
REFERENCIAS.....	27
ANEXOS	34

Índice de tablas

Tabla 1.....	16
Tabla 2.....	17
Tabla 3.....	18
Tabla 4.....	19

Resumen

La presente investigación tuvo como objetivo comparar el efecto antibacteriano in vitro de cinco concentraciones del extracto hidroetanólico de *Heterotheca inuloides* Cass. (Árnica) y un control positivo sobre *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152. Fue una investigación básica con diseño experimental verdadero. La efectividad antibacteriana fue determinada por el método de disco difusión. El extracto se obtuvo por maceración con agitación en solvente a partir de las flores de *H. inuloides* y se prepararon las concentraciones de 30 mg/mL, 40 mg/mL, 50 mg/mL, 60 mg/mL y 70 mg/mL. El control positivo fue clorhexidina 0,12% y el control negativo fue DMSO 1%. La evaluación se hizo en agar sangre (Merck) y la incubación a 36,5 °C durante 48 en condiciones de microaerofilia. Se reportaron halos de inhibición promedios de 10,90± 0,333 mm a 30 mg/mL; 12,63± 0,340mm a 40 mg/mL; 14,95 ± 0,558mm a 50 mg/mL; 19,65± 0,704mma 60 mg/mL y 25,36 ± 0,826mm a 70 mg/mL. El control formó un halo promedio de 15,58 ± 0,614 mm. Concluimos que el extracto hidroetanólico de árnica presenta efecto antibacteriano in vitro sobre *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152 y el efecto de las concentraciones de 60 mg/mL y 70 mg/mL superaron significativamente al control (p<0,05).

Palabras clave: Antibacterianos, Asteraceae; Árnica; *Eikenella corrodens*; Extractos vegetales.

Abstract

The present research aimed to compare the in vitro antibacterial effect of five concentrations of the hydroethanolic extract of *Heterotheca inuloides* Cass. (Arnica) and a positive control on *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152. It was basic research with true experimental design. The antibacterial effectiveness was determined by the discodiffusion method. The extract was obtained by maceration with stirring in solvent from the flowers of *H. inuloides* and the concentrations of 30 mg / mL, 40 mg / mL, 50 mg / mL, 60 mg / mL and 70 mg / mL were prepared. The positive control was 0.12% chlorhexidine and the negative control was DMSO 1%. The evaluation was made on blood agar (Merck) and incubation at 36.5 °C for 48 under microaerophilic conditions. Average inhibition halos of 10.90 ± 0.333 mm were reported at 30 mg / mL; 12.63 ± 0.340mm at 40mg / mL; 14.95 ± 0.558mm at 50mg / mL; 19.65 ± 0.704 mm at 60 mg / mL and 25.36 ± 0.826 mm at 70 mg / mL. The control formed an average halo of 15.58 ± 0.614 mm. We conclude that the hydroethanolic extract of arnica has an antibacterial effect in vitro on *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152 and the effect of the concentrations of 60 mg / mL and 70 mg / mL significantly exceeded the control (p <0.05).

Keywords: Antibacterials; Asteraceae; Arnica; *Eikenella corrodens*; Vegetable extracts.

I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades bucodentales constituyen una importante carga económica para el sector salud de muchos países y afectan la calidad de vida de casi 3500 millones de personas.¹ Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), las patologías orales, como la caries dental y la enfermedad periodontal son un problema de salud pública en todo el mundo y más aún en los países pobres.² La enfermedad periodontal son procesos inflamatorios a nivel del tejido y los huesos que rodean y contienen a los dientes.³ La fase inicial se denomina gingivitis y afecta a las encías con sangrado, dolor y en ocasiones halitosis.² La patología grave denominada periodontitis, produce la pérdida irreversible de la inserción y del hueso alveolar. La periodontitis avanzada es la principal causa de edentulismo en adultos y está asociada con muchas enfermedades crónicas que afectan la salud general.⁴ En Perú, la prevalencia de enfermedad periodontal no está actualizada. El último referente epidemiológico a nivel nacional data de 1990 y reportaba un 85% de prevalencia,⁵ la última evidencia la publicó Tipe et al⁶, en el 2019 pero solo en una población rural vulnerable y con diferentes grados de síndrome de Down alcanzó el 85,9% de prevalencia de enfermedad periodontal.

Los últimos avances han permitido comprender de mejor manera la complejidad del microbioma oral y los cambios que ocurren en las biopelículas subgingivales en la transición de la salud a la enfermedad periodontal. La biopelícula comensal benigna asociada al diente sufre disbiosis a una microbiota potencialmente patógena. En este fenómeno influyen los sistemas inflamatorios de los tejidos periodontales que están en un equilibrio bidireccional con el microbioma periodontal y que contribuyen al proceso destructivo de la enfermedad.^{7, 8} Los estudios microbiológicos han demostrado que, ante la abstención de la higiene bucal, se produce un cambio en las especies dominantes presentes en las comunidades subgingivales.⁷ Tanto la gingivitis crónica como la periodontitis crónica son iniciadas y sostenidas por los microorganismos de la placa dental. Los patógenos asociados a esta enfermedad incluyen bacterias anaerobias gramnegativas, espiroquetas e incluso virus. Las formas agresivas de enfermedad periodontal se han asociado con la colonización de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y *Porphyromonas gingivalis*.⁹

Eikenella corrodens es una bacteria periodontopatógena en forma de bacilo gramnegativo y anaerobio facultativo. Es predominante en muestras de placa subgingival de pacientes con periodontitis avanzada. Se ha demostrado que la mono infección de ratas gnotobióticas con *E. corrodens* causa enfermedad periodontal con enfermedad alveolar grave y pérdida ósea. Su principal factor de virulencia es la producción de hemolisinas que destruyen los glóbulos rojos liberando hierro y favoreciendo su captación por las bacterias orales.¹⁰

Desde hace varios años que las enfermedades orales asociadas a placa dental se controlan mediante la utilización de agentes químicos o antibióticos lo que ha generado el desarrollo de resistencia bacteriana.¹¹ Además, se ha reportado que los compuestos químicos pueden alterar el microbioma oral y tener efectos indeseables como vómitos, diarrea y tinción de los dientes. Dada estas circunstancias, la utilización de plantas medicinales puede considerarse como una alternativa potencial para la supresión de los microorganismos orales asociados a placa y potencialmente patógenos y sin efectos secundarios.¹²

El Perú es un país con una cultura milenaria y es considerado uno de los doce con mayor diversidad del planeta. En el 2008 ocupó el primer lugar de los países con el mayor número de especies vegetales con propiedades medicinales utilizadas por la población. El empleo de plantas medicinales frente a diversas enfermedades y para mejorar la salud oral, no es reciente y data desde la época precolombina hasta la actualidad.¹³ La propiedad más estudiada es su potencial antimicrobiano, gracias a los alcaloides, taninos, aceites esenciales y flavonoides aislados que exhiben una pronunciada actividad antimicrobiana.^{12,14}

Varias especies vegetales, de diferentes familias botánicas utilizadas en la medicina tradicional en todo el mundo comparten el nombre común "árnica". La familia *Asteraceae* cuenta con 48 especies conocidas como árnica. Los miembros de este complejo de plantas medicinales en su mayoría comparten aplicaciones similares en fitoterapia. Una de las especies más utilizada de esta familia es *Heterotheca inuloides*, conocida como "árnica mexicana". Esta planta es utilizada para fines terapéuticos principalmente por las poblaciones rurales y urbanas en diversos países del mundo incluido el Perú.^{15,16}

H. inuloides crece de forma silvestre en las regiones más frías y templadas a altitudes de entre 2000 y 3000 m.s.n.m. En la medicina popular se cree que tiene propiedades humorales. Se han aislado distintos tipos de compuestos del aceite esencial y extractos orgánicos de sus raíces, hojas, tallos y flores. Al tamizaje fitoquímico se reporta compuestos triterpenos, sesquiterpenos, fenólicos, polifenólicos, y fitoesteroles. Se utiliza en infusiones o decocciones para mitigar distintos tipos de dolores, reumatismo, úlceras estomacales, trastornos gastrointestinales, gastritis, erisipela, erupciones cutáneas, quemaduras, picaduras de insectos, enfermedades vasculares, renales y pulmonares, fiebre, múltiples infecciones, vaginitis, cáncer y diabetes entre otras.¹⁵⁻¹⁷

El potencial antimicrobiano de *H. inuloides* ha sido evaluado usando distintas cepas de interés clínico. Su extracto etanólico ha demostrado actividad contra *Helicobacter pylori* y *Streptococcus mutans*. Los extractos metanólicos mostraron actividad antifúngica contra *Microsporum gypseum* y *Trichophyton mentagrophytes*. Los sesquiterpenos presentan actividad contra *Bacillus subtilis*, *Brevibacterium ammoniagenes*, *S. aureus*, *S. mutans*, *Propionibacterium acnes*, y *T. mentagrophytes*.¹⁵⁻¹⁷

En ese sentido y ante la problemática anterior se planteó la siguiente interrogante; ¿Cuál es el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroetanólico de *Heterotheca inuloides* Cass. (Árnica) sobre *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152?

La presente investigación se justifica teóricamente porque si se revisan los trabajos previos, no existen investigaciones donde se haya evaluado el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico *H. inuloides* contra la bacteria *Eikenella corrodens*. Por tanto, existe un vacío en el conocimiento del potencial antimicrobiano de esta planta que requiere ser llenado. Tiene justificación práctica pues los resultados obtenidos permitirán contar con una alternativa natural para el control de microorganismos de interés estomatológico. Presenta justificación social pues lo que se intenta también es revalorar las plantas medicinales de nuestro país, tecnificar su procesamiento que garantice su uso seguro por la población sin contribuir a la resistencia bacteriana que se ha constituido en una alarma grande para la salud pública mundial. Además, los recursos vegetales silvestres siempre serán más fáciles de adquirir por la población de ingreso bajos,

que no dispone de los recursos necesarios para curar sus enfermedades con medicación sintética o que se le dificulta el acceso a los sistemas de salud público o privado. Tiene justificación por conveniencia toda vez que la tesis y su sustentación, permitirá a los investigadores obtener el título profesional de Cirujano Dentista.

Por ello, para dar solución al problema planteado se propone el objetivo general; comparar el efecto antibacteriano *in vitro* de cinco concentraciones del extracto hidroetanólico de flores de *Heterotheca inuloides* Cass. (Árnica) y un control positivo sobre *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152. Comparar el efecto antibacteriano *in vitro* de la concentración la concentración 60 mg/mL del extracto hidroetanólico de *Heterotheca inuloides* Cass. (Árnica) con un control positivo gluconato de clorhexidina 0,12% sobre *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152. Comparar el efecto antibacteriano *in vitro* de la concentración la concentración 70 mg/mL del extracto hidroetanólico de *Heterotheca inuloides* Cass. (Árnica) con un control positivo gluconato de clorhexidina 0,12% sobre *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152. Comparar el efecto antibacteriano *in vitro* de la concentración la concentración 60 mg/mL y 70 mg/mL del extracto hidroetanólico de *Heterotheca inuloides* Cass. (Árnica) sobre *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152

Se plantea como hipótesis; el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroetanólico de *Heterotheca inuloides* Cass. (Árnica) es de tipo bactericida sobre *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152.

II. MARCO TEÓRICO

Kryvtsova, et al¹⁸ en el 2020 en Ucrania, estudiaron las propiedades antimicrobianas, antibiofilm y antioxidante de extractos alcohólicos de *Arnica montana* L. y *Achillea millefolium* L. Se valoraron extractos etílicos y metílicos a partir de inflorescencias de ambas plantas. La actividad antibacteriana y antibiofilm se evaluó contra bacterias del género *Staphylococcus*. La actividad antimicrobiana fue evaluada por el método de difusión en agar. Se reportaron halos de inhibición promedio de $20,20 \pm 0,30$ mm (Extracto etanólico) y de $19,30 \pm 0,30$ mm (Extracto metanólico) de *A. montana* L. En el caso de *A. millefolium* L., los halos de inhibición promedio fueron de $10,33 \pm 0,58$ mm (Extracto etanólico) y de $10,67 \pm 0,58$ mm (Extracto metanólico). Ambas plantas mostraron propiedades antibiofilm y presentan actividad antioxidante significativa. Concluyeron que es necesario una mayor investigación de la posible aplicación de los extractos de *Arnica montana* L. y *Achillea millefolium* L. como agentes anti estafilocócicos que podrían emplearse para el tratamiento de procesos inflamatorios en la cavidad bucal y la orofaringe.

Shetty, et al¹⁹ en el 2020 en Emiratos Árabes Unidos, evaluaron la eficacia de *Psidium guajava* (guayaba) y *Allium sativum* (ajo) sobre *Porphyromonas gingivalis* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Se prepararon extracto acuoso y etanólico de guayaba (AGvE; EGvE), extracto acuoso y etanólico de ajo (AGE; EGE). Los efectos inhibidores se evaluaron mediante el método de difusión de pozos de agar. De los AGE, 25, 50 y 75 μ L mostraron una zona de inhibición de 16, 20 y 25 mm, respectivamente, en *P. gingivalis*. El AGE mostró mayor actividad bacteriostática contra *P. gingivalis* con CMI determinada a 16.6 μ L/mL. La CIM determinada para AGvE y EGvE fue de 75 μ L/mL de concentración para *P. gingivalis*, mientras que EGvE mostró actividad a 75 μ L/mL en *P. gingivalis*. La MIC determinada para AGvE fue de 50 μ L/mL, mientras que la MIC determinada para EGvE fue de 3.12 μ L/mL para *A. actinomycetemcomitans*. Concluyeron que *P. guajava* y *A. sativum* mostraron un efecto antibacteriano significativo. *A. sativum* fue más eficaz contra *P. gingivalis*, mientras que *P. guajava* fue más efectivo sobre *A. actinomycetemcomitans*.

Yalgi, et al²⁰ en el 2019 en India, investigaron la actividad antibacteriana de *Hypericum perforatum*, *Arnica Montana*, *Echinacea angustifolia* y *Calendula officinalis* contra *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*. Fue un estudio experimental in vitro. La susceptibilidad antibacteriana se determinó mediante el método de difusión en disco y la concentración mínima inhibitoria (CMI). El cultivo se realizó en agar sangre y Agar cerebro-corazón, en aerobiosis a 37°C por 24 horas. Los resultados muestran que *H. perforatum*, *A. montana*, *E. angustifolia* y *C. officinalis* formaron halos de inhibición promedio de 16, 15, 18 y 10 mm respectivamente contra *E. faecalis*. Mientras que contra *S. mutans* la inhibición promedio fue 24, 16 y 16 mm en el caso de las tres primeras plantas. *C. officinalis* no tuvo efecto contra *S. mutans*. La CMI para *S. mutans* fue de 62,5 mg/mL en todas las plantas mientras que para *E. faecalis* fue de 1 mg/mL con *H. perforatum*; de 4 mg/mL con *A. montana* y *E. angustifolia*, y con *C. officinalis* 16 mg/mL. Concluyeron que todos los productos vegetales exhibieron buena actividad antibacteriana siendo la de mayor actividad *H. perforatum*.

Jalaluddin, et al²¹ en el 2019 en la India, evaluaron la actividad antimicrobiana del extracto de *Curcuma longa* L. sobre patógenos periodontales. Fue una investigación experimental in vitro. La eficacia antimicrobiana de las soluciones de *C. longa* L. al 1% y clorhexidina al 0,2% se evaluó por el método de difusión en disco contra *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Los valores medios de zona de inhibición frente a *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* y *Prevotella intermedia* producidos por *C. longa* fueron de $26,94 \pm 1,52$; $23,81 \pm 1,35$ y $21,83 \pm 1,66$ mm, respectivamente y los de clorhexidina fueron $24,67 \pm 1,23$; $24,92 \pm 1,22$ y $23,71 \pm 1,41$ mm, respectivamente. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de prueba en la inhibición del crecimiento de las bacterias periodontopáticas comunes. Concluyeron que *C. longa* posee eficacia antimicrobiana contra las bacterias periodontopáticas comunes. Sin embargo, se requieren más estudios que respalden el uso beneficioso de *C. longa* en el tratamiento de enfermedades periodontales.

Saquib, et al²² en el 2019 en Arabia Saudita, evaluaron la eficacia antibacteriana sinérgica de extractos de plantas en combinación con antibióticos en patógenos

periodontales seleccionados. Fue un estudio experimental in vitro. Se prepararon extractos etanólicos de *Salvadora persica* (Miswak) y *Cinnamomum zeylanicum* (Canela de Ceilán), por el método de soxhlet. La susceptibilidad de las bacterias a los extractos se evaluó mediante el método de difusión en pozo midiendo el diámetro de las zonas de inhibición. El extracto etanólico de ambas plantas mostró un efecto inhibitorio sobre la proliferación y el crecimiento de las cuatro cepas de patobiontes periodontales. Los extractos de etanólicos de *C. zeylanicum* y *S. persica* se evaluaron a la concentración de 2 mg/mL y formaron halos de inhibición sobre *P. gingivalis* de 18 ± 1.5 mm y 15 ± 0.35 mm; sobre *T. denticola* de 13 ± 1.0 mm y 14 ± 1.75 mm; sobre *T. forsythia* 21 ± 1.75 mm y 19 ± 1.56 mm y sobre *A. actinomycetemcomitans* de 8 ± 0.75 mm y 10 ± 2.0 mm respectivamente. Concluyeron que el estudio mostró una actividad antibacteriana variable por los extractos de hierbas experimentados contra los patobiontes periodontales.

Vahabi, et al²³ en el 2019 en Irán, evaluaron los efectos antibacterianos de los extractos hidroalcohólicos de *Lawsonia inermis*, *Malva sylvestris* y *Boswellia serrata* sobre *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Fue una investigación experimental. Los extractos se obtuvieron mediante la técnica de maceración. La eficacia antimicrobiana de las plantas medicinales se comparó con la de clorhexidina (CHX) al 0,2% según el protocolo del CLSI utilizando técnicas de difusión en disco de agar y microdilución en caldo. Todas las pruebas se hicieron por triplicado. Los extractos hidroalcohólicos de las tres plantas tuvieron actividad antimicrobiana contra *A. actinomycetemcomitans*. Se reportó que el extracto hidroalcohólico de *B. serrata* formó halos de inhibición de $10,33 \pm 1,15$ mm (100 μ L); $9,66 \pm 0,57$ mm (50 μ L) y $2,66 \pm 4,61$ mm (25 μ L). Los extractos hidroalcohólicos de *M. sylvestris* y de *L. inermis* no formaron halos de inhibición. El control CHX (0,2%) formó halos de inhibición promedio de $12,66 \pm 0,57$ mm. Concluyeron que los extractos hidroalcohólicos de *L. inermis* y *M. sylvestris* pueden usarse en enjuagues bucales para afectar la biopelícula periodontal.

Jayanti, et al²⁴ en el 2018 en la India, evaluaron la actividad antimicrobiana del extracto de *Ocimum sanctum* (tulsi) en *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y *Porphyromonas gingivalis*. Fue una investigación experimental in vitro. El extracto etanólico se obtuvo por el método de extracción en frío. Se prepararon las

concentraciones de 2, 4, 6 y 8%. La clorhexidina al 0,2% sirvió como control positivo. La actividad antibacteriana se evaluó mediante el método de difusión en disco. La concentración del 8% del extracto de tulsi mostró zona máxima de inhibición contra *A. actinomycetemcomitans* y *P. gingivalis* de $40,10 \pm 0,90$ mm y $33,79 \pm 1,82$ mm respectivamente. El control positivo clorhexidina al 0,2% formó zonas de inhibición de $39,80 \pm 1,24$ mm y $32,28 \pm 1,28$ mm frente a ambas bacterias respectivamente. El ANOVA mostró resultados altamente estadísticamente significativos ($p < 0,0001$). Concluyeron que la concentración del extracto de *O. sanctum* (tulsi) al 8% mostró la máxima actividad antimicrobiana contra *A. actinomycetemcomitans* y *P. gingivalis*. Por tanto, se recomienda su utilidad como complemento de la terapia mecánica en la prevención y el tratamiento de las enfermedades periodontales.

Shetty, et al²⁵ en el 2018 en India, evaluaron la eficacia del extracto de guayaba como agente antimicrobiano sobre patógenos periodontales. Fue una investigación experimental. Se evaluó el extracto etanólico de guayaba (EGE) y extracto acuoso de guayaba (AGE) sobre *Porphyromonas gingivalis* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. La actividad antibacteriana se determinó mediante el método de difusión de pozos. AGE a la concentración de 75 μ L formó un halo de inhibición promedio de $10,4 \pm 0,54$ mm contra *P. gingivalis*. Contra *A. actinomycetemcomitans* formó halos de inhibición de $18,2 \pm 0,83$ mm a la concentración de 50 μ L y de $22,8 \pm 1,48$ mm a la concentración de 75 μ L. En el caso de EGE sobre *P. gingivalis* formó halos de inhibición promedios de $15,4 \pm 0,54$ mm a la concentración de 75 μ L. Contra *A. actinomycetemcomitans* formó halos de inhibición de $11,6 \pm 0,54$ mm (a 3.12 μ L); $11,8 \pm 0,44$ mm (a 6.25 μ L); $13,4 \pm 0,54$ mm (a 12.5 μ L); $15,0 \pm 0,70$ mm (a 25 μ L); $18,0 \pm 1,00$ mm (a 50 μ L); $20,2 \pm 0,83$ mm (a 75 μ L). Concluyeron que el extracto de guayaba puede ser un agente terapéutico potencial para la periodontitis, ya que muestra una actividad significativa contra *P. gingivalis* y *A. actinomycetemcomitans*.

Raghavan, et al²⁶ en el 2018 en la India, evaluaron la eficacia del extracto de hoja de *Mentha piperita* contra patógenos orales. Fue una investigación experimental in vitro. El extracto acuoso de hoja de *M. piperita* se evaluó sobre *Streptococcus mutans*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y *Candida albicans*. Se utilizó

clorhexidina al 0,2% como control positivo. La efectividad antibacteriana se evaluó por el método de difusión en disco. Reportaron una zona de inhibición máxima tanto en los extractos de *M. piperita* como en la clorhexidina al 0,2% sobre *S. mutans* (20.16 ± 0.36 mm y 32.64 ± 1.34 mm, respectivamente), seguida de *A. actinomycetemcomitans* (18.34 ± 1.09 mm y 28.45 ± 0.22 mm) y *C. albicans* (15.83 ± 1.37 mm y 27.66 ± 1.85 mm). Concluyeron que *M. piperita* mostró actividad antimicrobiana contra los microorganismos bucales que están causando enfermedades bucales mayores o menos graves y puede ser administrada como medicina alternativa al tratamiento convencional.

García-Pérez, et al²⁷ en el 2016 en México, evaluaron la bioactividad, perfil de ácidos grasos y volátiles en extractos de fluidos supercríticos de *Heterotheca inuloides* (árnica mexicana). La actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos supercríticos se determinaron mediante el método de difusión en agar. Los microorganismos evaluados fueron cepas ATCC de *S. aureus*, *C. albicans*, *P. aeruginosa* y *E. coli*. Se observó que todos los tratamientos probados exhibieron un comportamiento antimicrobiano contra *S. aureus* (halos de inhibición entre 7 y 10 mm). Los cuatro tratamientos (T1 a T4) mostraron fuertes efectos antifúngicos contra *C. albicans* (halos entre 14 y 16 mm), mientras que en el caso de *E. coli* solo T1, T2 y T3 estuvieron entre los tratamientos más efectivos (halos entre 6 y 8,5 mm). Ninguno de los extractos demostró una zona clara y considerable de inhibición contra *P. aeruginosa*. Concluyeron que se demostraron las potenciales aplicaciones de los extractos supercríticos de *H. inuloides* para aplicaciones médicas como antioxidante, antimicrobiano y como una rica fuente de compuestos de alto valor y ácidos grasos.

La boca es un punto crítico de contacto con el entorno externo.²⁸ Esto, debido a fenómenos como el habla, la masticación, la deglución y la digestión de los alimentos que comienzan allí. Este órgano es crucial para la integración del sonido y la apariencia de los individuos por lo que su mantenimiento saludable es importante para la salud integral de las personas. Sin embargo, la salud bucal se ve frecuentemente afectada por diversas formas de enfermedades bucales, principalmente caries dental y enfermedad periodontal. Estos trastornos bucales son colectivamente las enfermedades crónicas más comunes y prevalentes en la

humanidad y tienen un gran impacto en las funciones bucales vitales, la autoestima, la calidad de vida, la salud y el bienestar en general.²⁹⁻³¹

Es bien sabido que diversos grupos bacterianos específicos que colonizan la cavidad bucal están asociados con la salud y las enfermedades orales, como caries dental y enfermedades periodontales.³² Las perturbaciones del microbioma bucal a través de los estilos de vida modernos pueden tener consecuencias perjudiciales para la salud bucal y general. En disbiosis, el equilibrio finamente ajustado del ecosistema oral se interrumpe, lo que permite que las bacterias promotoras de enfermedades se manifiesten y causen afecciones como caries, gingivitis y periodontitis.³³⁻³⁴

Las bacterias patógenas implicadas por mucho tiempo en la enfermedad periodontal son; *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y especies de *Treponema* y *Prevotella*.³⁵ Sin embargo, utilizando la hibridación de tablero de ajedrez, Socransky se han definido cinco complejos de los cuales el "complejo rojo" es el más patógeno. Este complejo contiene a *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *T. denticola* y su existencia depende mucho de otro complejo denominado naranja el cual incluye a bacterias de los géneros *Fusobacterium* spp., y *Prevotella* spp.^{35, 36}

Liderando el complejo verde encontramos a *Eikenella corrodens*, bacteria más conocida por integrar el complejo "HACEK".³⁷ Este acrónimo representa las cinco especies bacterianas implicadas en casos raros de endocarditis infecciosa. Se incluyen *Haemophilus* spp., *Aggregatibacter* spp., *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens* y *Kingella kingae*. Estas bacterias se agrupan debido a características similares, como el predominio en la microbiota orofaríngea, baja virulencia, perfil infeccioso similar y, su implicación en la endocarditis infecciosa. También pueden causar una variedad de otras infecciones que incluyen infecciones periodontales, bacteriemias, otitis media y abscesos.^{38, 39}

E. corrodens es un bacilo pleomórfico gramnegativo y anaerobio facultativo. El crecimiento de sus colonias corroe el agar (de allí su nombre) y produce un olor a hipoclorito de sodio. Esta bacteria se encuentra en raspados dentales y gingivales y se ha observado en infecciones odontogénicas y periodontales, infecciones craneofaciales, así como en casos de celulitis por mordeduras humanas. La

contaminación salival de agujas o sitios de punción en usuarios de drogas intravenosas puede causar endocarditis de la válvula tricúspide.³⁷⁻³⁹

El impacto que tiene el cuidado bucal en una persona ha indicado la necesidad de tratamientos. Sin embargo, existe la preocupación por la responsabilidad de los antibacterianos sintéticos en el aumento de la resistencia microbiana, así como los efectos adversos que tienen algunos dentro de la cavidad oral humana. Por lo tanto, existe la necesidad de desarrollar opciones y tratamientos preventivos alternativos que sean seguros, efectivos y económicos para el uso diario. En esa búsqueda, el descubrimiento de fitoquímicos naturales de plantas utilizadas en la medicina tradicional ha mostrado resultados prometedores.⁴⁰⁻⁴¹

Heterotheca inuloides Cass. “árnica mexicana”, Familia Asteraceae. Su nombre deriva de las raíces griegas ετεροσ and θηκη and se refiere a las diversas formas de los frutos. Esta característica conocida como heterocarpia se comparte con otros géneros de la familia. En el 2001 *H. inuloides* fue una de las 19 plantas medicinales incluidas en la primera y segunda edición de la Farmacopea Mexicana de Hierbas. Es una planta herbácea y perenne, de hasta 1 m de altura con hojas alternas, lanceoladas y pubescentes con márgenes dentados. El pasto tiene olor débil y sabor amargo. Está ampliamente distribuida en América del Norte, como en las regiones frías de América del Sur. Esta planta tiene un especial significado en la medicina tradicional mexicana.¹⁵

H. inuloides, es una planta medicinal que se ha utilizado durante siglos para curar una serie de enfermedades incluidas las patologías dentales de las poblaciones del mundo.⁴² Varios estudios sobre esta planta han dado como resultado el aislamiento de diferentes clases de compuestos, principalmente flavonoides, sesquiterpenos de tipo cadineno, triterpenoides y fitoesteroles. Se han revisado los usos etnomédicos y los componentes químicos de esta especie. Estudios anteriores han informado que el extracto metanólico, etanólico y otros productos naturales aislados de las flores secas de *H. inuloides* poseen actividad antioxidante y antimicrobiana.⁴³

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de investigación

El tipo de Investigación es básica debido a que los resultados obtenidos en el presente estudio no pueden ser utilizados inmediatamente para resolver la problemática planteada, sin embargo aportan conocimiento teórico para llenar los vacíos en el conocimiento científico.⁴⁴

El diseño de investigación es experimental puro. La investigación experimental se lleva a cabo cuando un investigador desea rastrear relaciones de causa y efecto entre variables definidas, hay manipulación de por lo menos una de las variables y utiliza controles.⁴⁵

3.2. Variables y operacionalización

Variable Independiente:

Extracto hidroetanólico de *Heterotheca inuloides* Cass. (Árnica). Es una variable de tipo cuantitativa. Se define conceptualmente como el producto total obtenido a partir de la exposición del material vegetal seco de *H. inuloides* a una mezcla hidroalcohólica y que contiene los fitoquímicos de la matriz vegetal (Anexo 1).⁴⁶

Variable dependiente:

Efecto antibacteriano in vitro sobre *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152. Es una variable cuantitativa. Se define conceptualmente como la capacidad de un antimicrobiano de inhibir de forma temporal (Efecto bacteriostático) o de forma permanente (Efecto bactericida) el desarrollo de *E. corrodens* ATCC BAA-1152 (Anexo 1).⁴⁷

3.3. Población (criterios de selección), muestra, muestreo, unidad de análisis.

La población estuvo constituida por la planta *Heterotheca inuloides* Cass. (Árnica) y la cepa de *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152.

La muestra estuvo conformada por las cinco concentraciones del extracto hidroetanólico de *Heterotheca inuloides* Cass. y la concentración del inóculo de *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152.

En el caso de investigaciones experimentales el muestreo corresponde al cálculo de las unidades de ensayo mediante la resolución de la fórmula para la determinación de duplicados y repeticiones (Anexo 2).

Las unidades de análisis fueron 10 para cada grupo experimental, al ser 5 grupos experimentales correspondientes a las concentraciones del extracto vegetal y 1 grupo control positivo el total de unidades de ensayo fueron 70. Grupo 1 (30 mg/mL); Grupo 2(40 mg/mL); Grupo 3(50 mg/mL); Grupo 4(60 mg/mL); Grupo 5 (70 mg/mL). El grupo 6 fue Clorhexidina 0,12%control positivo y el grupo 7 fue DMSO 1%, control negativo (Anexo 2).

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Se utilizó la técnica de la experimentación. Para garantizar la fiabilidad de los resultados se utilizaron técnicas estandarizada por el Clinical and Laboratory standard institute (CLSI). Se empleó el método espectrofotométrico para la estandarización del inóculo de *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152. La siembra del inóculo bacteriano se realizará por el método de dispersión en superficie con hisopo. Las concentraciones volumétricas del extracto hidroalcohólico de *Heterotheca inuloides* Cass se obtuvieron por dilución del extracto seco pesado en balanza analítica. La evaluación de la capacidad antibacteriana in vitro se realizó mediante el método de difusión en disco. Para la medición de los halos de inhibición se utilizó un equipo vernier mecánico de la marca *Starrett*. El procesamiento microbiológico fue llevado a cabo por un experto microbiólogo (Anexo 3).

3.5. Procedimientos

Obtención de cepa de *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152.

La cepa de *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152 certificada fue adquirida mediante importancia por la empresa de GenLab del Perú S.A.C en estado liofilizado.

Medios de cultivo y condiciones de cultivo

Para la reactivación de la cepa de *E. corrodens* ATCC BAA-1152 se utilizó caldo nutritivo (Merck) y agar sangre (Medio base Mueller-Hinton de Merck). Las condiciones microbiológicas de cultivo consideraron microaerofilia a 37 °C durante 24 horas en placa sellada. La cepa reactivada de *E. corrodens* ATCC BAA-1152 se mantuvo viable en agar sangre (Merck). Este medio de cultivo y las mismas condiciones microbiológicas fueron utilizados para la evaluación del efecto antibacteriano. Todos los medios de cultivo fueron medios de la marca Merck, con certificación de calidad ISO 11133.⁴⁸

Preparación y estandarización del inóculo bacteriano

El inóculo de *E. corrodens* ATCC BAA-1152 fue preparado a partir de UFC que desarrollaron en agar sangre una vez reactiva la cepa liofilizada. La estandarización de la concentración de dicho inóculo se realizó en un espectrofotómetro de luz visible marca Kytel y modelo KV-1200. La concentración estándar fue de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL con una absorbancia de 0,09 a una longitud de onda de 625 nm (equivalente al estándar 0,5 del nefelómetro de MacFarland).⁴⁹

Obtención y certificación del material vegetal de *Heterotheca inuloides* Cass.

El material vegetal seco de *Heterotheca inuloides* Cass. fue obtenido seco de la empresa *Hierbella Herbolestería* de la localidad de Arequipa durante el mes de abril del 2021. Quienes también certificaron la especie vegetal (Anexo 4).

Obtención del extracto hidroetanólico total de *Heterotheca inuloides* Cass. y preparación de las concentraciones.

El material vegetal fue transportado en su empaque original vía terrestre al laboratorio de Investigación *Science Experiment* E.I.R.L. en la ciudad de Trujillo. En el laboratorio se realizó la apertura del empaque y la selección de las flores, las cuales fueron utilizadas para la obtención del extracto. Seleccionadas las flores fueron pulverizadas en molino artesanal marca corona. El material vegetal seco y molido fue pesado en balanza analítica y luego depositado en un matraz Erlenmeyer. Posteriormente se incorporó la

mezcla hidroetanólica al 80%, se mezcló y se maceró en agitación durante 72 h en agitador magnético marca FOUR E'S Scientific modelo MI0102003. El extracto obtenido fue decantado en matraz estéril y se filtró por duplicado con papel de filtro Whatman N° 1 y N° 2. El filtrado final se llevó a evaporación en estufa microbiológica a 40 °C durante 48 h. Obtenido el extracto seco crudo se prepararon cinco concentraciones de 30 mg/mL; 40 mg/mL; 50 mg/mL; 60 mg/mL y 70 mg/mL usando como solvente dimetilsulfóxido al 1 % (DMSO) (Sigma) y también como control negativo. Las concentraciones fueron preparadas inmediatamente al momento de la experimentación en tubos de ensayo estériles (Anexo 5).⁵⁰

Evaluación de la actividad antibacteriana mediante el método de difusión en disco.

El procedimiento se llevó a cabo por la especialista en microbiología (Anexo 3) en el laboratorio de Investigación Science Experiment E.I.R.L. de la ciudad de Trujillo. A partir del inóculo estandarizado y con ayuda de un hisopo estéril se realizó la siembra por dispersión en la superficie de las placas servidas con agar sangre (Merck). La siembra se realizó en tres direcciones contrapuestas y en los bordes para asegurar una distribución uniforme del inóculo en toda la superficie de la placa. Realizada la siembra, se colocaron los discos de sensibilidad embebidos con cada una de las concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Heterotheca inuloides* Cass. y también del control positivo Clorhexidina 0,12%. Las placas se dejaron reposar durante 30 minutos a temperatura ambiente y luego fueron selladas con Cinta Parafilm para crear las condiciones de microaerofilia. Se incubaron en estufa microbiológica marca Kyntel, modelo HHA-12 a 36,5°C ± 1°C durante 24 h (Anexo 5).⁵¹⁻⁵²

Lectura de resultados.

Se realizaron 10 replicaciones por cada uno de los tratamientos. La actividad antibacteriana se evaluó por el método de difusión en disco. Para ello se analizaron todas las placas de petri sembradas en busca de zonas de inhibición alrededor de los discos de sensibilidad con cada una de las concentraciones del extracto evaluado como del control. Las zonas de inhibición fueron medidas con un vernier mecánico marca Starrett® y

reportadas como promedio de halos de inhibición en mm según tratamiento y desviación estándar y registrados en la ficha de recolección de datos (Anexo 5 y 6).⁵²

3.6. Método de análisis de datos

Los datos recopilados en la ficha fueron tabulados en el programa Excel 2010. Para el análisis estadístico se empleó el software SPSS v.26. Se determinó la normalidad de los datos mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Con los dos datos siguiendo una distribución normal se realizó el análisis de varianza (ANOVA unidireccional). La comparación de las medias de los resultados y su significancia estadística fue establecida mediante el análisis post hoc de Tukey con un nivel de confianza del 95% (Anexo 7).⁵³

3.7. Aspectos éticos

Las investigaciones experimentales se fundamentan éticamente en el uso responsable y seguro de los microorganismos. Se cumplió la normativa establecida en el Manual de Bioseguridad y de Gestión de residuos comunes y biocontaminados del laboratorio de Investigación Science Experiment E.I.R.L. También se tomaron en cuenta las recomendaciones dadas por el Ministerio de Salud (MINSAL) ⁵⁴ y la Organización Mundial de la Salud (OMS) en sus respectivos manuales de bioseguridad.⁵⁵

IV. RESULTADOS

Tabla 1. Comparación del efecto antibacteriano *in vitro* de cinco concentraciones del extracto hidroetanólico de flores de *Heterotheca inuloides* Cass. (Árnica) y un control positivo Clorhexidina 0,12% sobre *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152 mediante el método de difusión en disco.

Bacteria	Concentración extracto / control	Zona de inhibición (mm)				p^{**}
		Media	D.E*	Mínimo	Máximo	
<i>Eikenella corrodens</i> ATCC BAA-1152	30 mg/mL	10,90	0,333	10,50	11,40	0,000
	40 mg/mL	12,63	0,340	12,20	13,10	
	50 mg/mL	14,95	0,558	14,40	15,90	
	60 mg/mL	19,65	0,704	18,70	20,60	
	70 mg/mL	25,36	0,826	24,20	26,60	
	0,12%***	15,58	0,614	14,40	16,40	
	1%****	0,00	0,000	0,00	0,00	

Fuente: Base de datos

*Desviación estándar

**ANOVA (Intervalo de confianza del 95% para la media).

*** Gluconato de Clorhexidina

**** DMSO

En la tabla 1 se observa el análisis de varianza (ANOVA) del efecto antibacteriano *in vitro* de cinco concentraciones del extracto hidroetanólico de flores de *Heterotheca inuloides* Cass. (Árnica) y un control positivo Clorhexidina 0,12% sobre *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152 por el método de difusión en disco. Se reporta formación de halos de inhibición en todas las concentraciones del extracto evaluadas. La máxima inhibición se obtuvo a la concentración de 60 mg/mL y 70 mg/mL con halos de inhibición promedio de $19,65 \pm 0,704$ mm y $25,36 \pm 0,826$ mm respectivamente. La inhibición de ambas concentraciones fue superior al control Clorhexidina 0,12% ($15,58 \pm 0,614$ mm). El control negativo no inhibió a *E. corrodens*. Existe diferencia estadísticamente significativa entre todos los tratamientos evaluados ($p < 0,05$).

Tabla 2. Comparación del efecto antibacteriano in vitro de la concentración 60 mg/mL del extracto hidroetanólico de *Heterotheca inuloides* Cass. (Árnica) y un control positivo gluconato de clorhexidina 0,12% sobre *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152 expresado en el promedio de halos de inhibición.

Bacteria	Concentración extracto / control +	Zona de inhibición (mm)		
		Media	D.E**	p^{***}
<i>Eikenella corrodens</i>	60 mg/mL	19,65	0,704	0,000
ATCC BAA-1152	0,12%*	15,58	0,614	

Fuente: Base de datos

* Gluconato de Clorhexidina

** Desviación estándar

*** Tukey

En la Tabla 2 se muestra la comparación de la media de halos de inhibición de la concentración de 60 mg/mL del extracto hidroetanólico de *H. inuloides* Cass. y del control positivo Gluconato clorhexidina 0,12% Se observan halos promedio de $19,65 \pm 0,704$ mm y $15,58 \pm 0,614$ mm respectivamente. La prueba de U de Mann-Whitney muestra diferencia altamente significativa entre ambos efectos ($p=0,000$)

Tabla 3. Comparación del efecto antibacteriano in vitro de la concentración 70 mg/mL del extracto hidroetanólico de *Heterotheca inuloides* Cass. (Árnica) y un control positivo gluconato de clorhexidina 0,12% sobre *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152 expresado en el promedio de halos de inhibición

Bacteria	Concentración extracto / control +	Zona de inhibición (mm)		
		Media	D.E**	p ***
<i>Eikenella corrodens</i> ATCC BAA-1152	70 mg/mL	25,36	0,826	0,000
	0,12%*	15,58	0,614	

Fuente: Base de datos

* Gluconato de Clorhexidina

** Desviación estándar

*** Tukey

En la Tabla 3 se muestra la comparación de la media de halos de inhibición de la concentración de 70 mg/mL del extracto hidroetanólico de *H. inuloides* Cass. y del control positivo Gluconato clorhexidina 0,12% Se observan halos promedio de $25,36 \pm 0,826$ mm y $15,58 \pm 0,614$ mm respectivamente. La prueba de U de Mann-Whitney muestra diferencia altamente significativa entre ambos efectos ($p=0,000$)

Tabla 4. Comparación del efecto antibacteriano in vitro de la concentración la concentración 60 mg/mL y 70 mg/mL del extracto hidroetanólico de *Heterotheca inuloides* Cass. (Árnica) sobre *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152

Bacteria	Concentración extracto	Zona de inhibición (mm)		
		Media	D.E*	p^{**}
<i>Eikenella corrodens</i> ATCC BAA-1152	60 mg/mL	19,65	0,704	0,000
	70 mg/mL	25,36	0,826	

Fuente: Base de datos

* Desviación estándar

** Tukey

En la Tabla 4 se muestra la comparación de la media de halos de inhibición de la concentración de 60 mg/mL y 70 mg/mL del extracto hidroetanólico de *H. inuloides* Cass. Se observan halos promedio de $19,65 \pm 0,704$ mm y $\pm 25,36 \pm 0,826$ mm respectivamente. La prueba de U de Mann-Whitney muestra diferencia altamente significativa entre ambos efectos ($p=0,000$)

V. DISCUSIÓN

En diversas investigaciones precedentes se ha comunicado los beneficios farmacológicos proporcionados por *Heterotheca inuloides* Cass. (Árnica). El presente estudio experimental buscó evaluar y comparar la capacidad antibacteriana de cinco concentraciones del extracto hidroetanólico de las flores de esta planta medicinal y la de un control positivo clorhexidina 0,12% y un control negativo DMSO 1%, utilizado como solvente del extracto seco. La capacidad antibacteriana fue determinada mediante el método de difusión en disco, por lo que los resultados fueron expresados en promedios del diámetro del halo de inhibición formado.

Los resultados reportados fueron; a la concentración de 30 mg/mL un halo de inhibición promedio de $10,90 \pm 0,333$ mm; a 40 mg/mL un halo promedio de $12,63 \pm 0,340$ mm; a 50 mg/mL un halo promedio de $14,95 \pm 0,558$ mm; a 60 mg/mL un halo promedio de $19,65 \pm 0,704$ mm y a 70 mg/mL un halo promedio de $25,36 \pm 0,826$ mm. La clorhexidina 0,12% formó un halo de inhibición promedio de $15,58 \pm 0,614$ mm, mientras que el DMSO 1% no inhibió a *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152.

Como se mencionó en la justificación, no existen investigaciones específicas donde se haya evaluado la capacidad antibacteriana de plantas de la familia Asteraceae contra la bacteria de interés de este estudio. Sin embargo, se ha investigado mucho el potencial antibacteriano de diversas plantas contra los principales periodontopatógenos. Considerando que estas bacterias presentan semejantes características microbiológicas que *E. corrodens* se realizará una contrastación y análisis entre los resultados de esta investigación y la de los antecedentes.

En ese sentido, Kryvtsova, et al¹⁸, estudiaron las propiedades antibacterianas, de extractos alcohólicos de *Arnica montana* L. y *Achillea millefolium* L. sobre bacterias del género *Staphylococcus*. Ellos reportaron halos de inhibición promedio de $20,20 \pm 0,30$ mm (Extracto etanólico) y de $19,30 \pm 0,30$ mm (Extracto metanólico) de *A. montana* L. En el caso de *A. millefolium* L., los halos de inhibición promedio fueron de $10,33 \pm 0,58$ mm (Extracto etanólico) y de $10,67 \pm 0,58$ mm (Extracto metanólico). Estos resultados son muy cercanos a los

obtenidos en la presente investigación con las concentraciones de 30 mg/mL y 60 mg/mL. A pesar que la evaluación fue contra bacterias de distinta naturaleza, la planta *A. montana* utilizada por Kryvtsova, et al¹⁸ pertenece a la misma familia que *Heterotheca inuloides* Cass. y como lo reporta Rodríguez-Chávez, et al¹⁵, en su investigación; *Árnica mexicana* (*Heterotheca inuloides* Cass. Asteraceae: Astereae): Usos etnomédicos, componentes químicos y propiedades biológicas; las especies pertenecientes a una misma familia botánica en su mayoría comparten propiedades farmacológicas similares.

Al respecto, Shetty, et al¹⁹, evaluaron la eficacia del extracto acuoso y etanólico de *Psidium guajava* (guayaba) y *Allium sativum* (ajo) sobre los periodontopatógenos del complejo rojo *Porphyromonas gingivalis* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Ellos reportaron halos de inhibición de 16, 20 y 25 mm, respectivamente, en *P. gingivalis*. Además, concluyen que *P. guajava* y *A. sativum* mostraron un efecto antibacteriano significativo. Siendo *A. sativum* más eficaz contra *P. gingivalis*, mientras que *P. guajava* fue más efectivo sobre *A. actinomycetemcomitans*. Como podemos ver, estos resultados también se correlacionan con los obtenidos en el presente estudio. Sin embargo, existe una diferencia resaltante, en el caso de Shetty, et al¹⁹, las concentraciones evaluadas fueron más pequeñas que en la presente investigación.

Por otra parte, Yalgi, et al²⁰, investigaron la actividad antibacteriana de cuatro plantas incluida *Arnica montana* contra *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*. Considerando solo esta planta que pertenece a la familia Asteraceae que es la misma de *H. inuloides*, reportaron halos de inhibición de 15 mm contra *E. faecalis*. Mientras que contra *S. mutans* la inhibición promedio fue de 16 mm. Se estableció una CMI para *S. mutans* de 62,5 mg/mL en todas las plantas. Estos resultados fueron menores y contrastan con los reportados en la presente investigación, pues por una parte la inhibición alcanzada por el estudio de Yalgi, et al²⁰ a 62,5 mg/mL, es cercana a la reportada en el presente estudio, pero a la concentración de 50 mg/mL. Tal vez, las características microbiológicas y de resistencia natural de una de las bacterias evaluadas en el presente estudio pudieron haber influenciado en el efecto reportado.

De la misma manera, Jalaluddin, et al²¹, evaluaron la actividad antimicrobiana del extracto de *Curcuma longa* L. al 1% contra *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Reportando halos de inhibición promedio de $26,94 \pm 1,52$; $23,81 \pm 1,35$ y $21,83 \pm 1,66$ mm. Sin embargo, no reportaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de prueba. En ese caso, los microorganismos evaluados son semejantes a *E. corrodens* en sus características microbiológicas, pero difiere la concentración de los extractos empleados. Sin embargo, la inhibición reportada por Jalaluddin, et al²¹ es superior a la de la concentración de 70 mg/mL que fue la más elevada del presente estudio. Al ser plantas medicinales de diferentes familias botánicas probablemente presentaba mayores principios activos antibacterianos, lo que explicaría la mejor efectividad antibacteriana.

Como se ha podido analizar, existen circunstancias como el tipo de planta y de microorganismo que podrían influir en la similitud o diferencia del efecto antibacteriano de los extractos alcohólicos de plantas medicinales. Así pues, Saquib, et al²², evaluaron la eficacia antibacteriana de extractos etanólicos de *Salvadora persica* y *Cinnamomum zeylanicum*, contra cuatro cepas periodontopatógenas. Los extractos de etanólicos de *C. zeylanicum* y *S. persica* se evaluaron a la concentración de 2 mg/mL y formaron halos de inhibición sobre *P. gingivalis* de 18 ± 1.5 mm y 15 ± 0.35 mm; sobre *T. denticola* de 13 ± 1.0 mm y 14 ± 1.75 mm; sobre *T. forsythia* 21 ± 1.75 mm y 19 ± 1.56 mm y sobre *A. actinomycetemcomitans* de 8 ± 0.75 mm y 10 ± 2.0 mm respectivamente. Considerando que la concentración de los extractos evaluadas por Saquib, et al²² fueron mucho más bajas que las utilizadas en el presente estudio se puede afirmar que estas plantas presentan mayor capacidad antibacteriana sobre los periodontopatógenos pues sus promedios de halos de inhibición son cercanos a la concentración de 60 mg/mL de *H. inuloides* que es 30 veces mayor a la estudiada por Saquib, et al²².

Estudios como los de Vahabi, et al²³, Jayanti, et al²⁴, Shetty, et al²⁵ y Raghavan, et al²⁶, evaluaron la capacidad antibacteriana de diversas plantas sobre bacterias periodontopatógenas y otros microorganismos de interés estomatológico. Reportaron halos de inhibición promedio de $10,33 \pm 1,15$ mm (100 μ L); $9,66 \pm$

0,57 mm (50 μ L) y $2,66 \pm 4,61$ mm (25 μ L); de $40,10 \pm 0,90$ mm y $33,79 \pm 1,82$ mm; de $10,4 \pm 0,54$ mm contra *P. gingivalis*. Contra *A. actinomycetemcomitans* formó halos de inhibición de 18.2 ± 0.83 mm a la concentración de 50 μ L y de 22.8 ± 1.48 mm a la concentración de 75 μ L; de 15.4 ± 0.54 mm a la concentración de 75 μ L; de 11.6 ± 0.54 mm (a 3.12 μ L); 11.8 ± 0.44 mm (a 6.25 μ L); 13.4 ± 0.54 mm (a 12.5 μ L); 15.0 ± 0.70 mm (a 25 μ L); 18.0 ± 1.00 mm (a 50 μ L); 20.2 ± 0.83 mm (a 75 μ L); de 20.16 ± 0.36 mm y 32.64 ± 1.34 mm; de 18.34 ± 1.09 mm y 28.45 ± 0.22 mm y de 15.83 ± 1.37 mm y 27.66 ± 1.85 mm. Se aprecian que, a diferentes concentraciones y distintas plantas, diferentes efectos antibacterianos. Todas las plantas mostraron capacidad antibacteriana con los periodontopatógenos. En algunos casos se puede observar que el efecto antibacteriano de las plantas medicinales fue mayor al reportado por el control clorhexidina. Se puede afirmar que las plantas medicinales deben su capacidad antimicrobiana a la presencia de metabolitos secundarios de tipo terpenos, flavonoides y fenoles, dichos compuestos bioactivos están presentes en *H. inuloides* y serían los responsables del efecto antibacteriano mostrado contra *E. corrodens*.

Finalmente, en la investigación de García-Pérez, et al²⁷, evaluaron la actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos supercríticos de *H. inuloides* contra *S. aureus*, *C. albicans*, *P. aeruginosa* y *E. coli*. Se observó que todos los tratamientos probados mostraron potencial antimicrobiano contra *S. aureus* con halos de inhibición promedio de entre 7 y 10 mm, mientras que en el caso de *E. coli* los halos de inhibición promedio estuvieron entre 6 y 8,5 mm. Esta investigación es muy importante porque estudiaron a la misma planta de interés del presente estudio, y uno de los microorganismos evaluados por García-Pérez, et al²⁷ tiene características morfológicas semejantes a la de *E. corrodens*. Sin embargo, los efectos reportados son distintos siendo mayores en el presente estudio. Esta diferencia, se fundamenta en que los principios activos y su concentración pueden variar en una misma planta dependiendo de las condiciones de cultivo y la parte utilizada para la obtención de los extractos. Debido a que en el presente estudio se utilizó la flor *H. inuloides* y García-Pérez, et al²⁷ empleó la raíz, allí pudieron radicar los distintos efectos.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroetanólico de flores de *Heterotheca inuloides* Cass. (Árnica) presenta efecto antibacteriano sobre *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152 y dicho efecto es superior al del control Clorhexidina 0,12%. Existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos.
2. El efecto antibacteriano in vitro de la concentración 60 mg/mL del extracto hidroetanólico de *Heterotheca inuloides* Cass. (Árnica) fue significativamente superior al efecto del control positivo gluconato de clorhexidina 0,12% sobre *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152 ($p < 0,05$).
3. El efecto antibacteriano in vitro de la concentración 70 mg/mL del extracto hidroetanólico de *Heterotheca inuloides* Cass. (Árnica) fue significativamente superior al efecto del control positivo gluconato de clorhexidina 0,12% sobre *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152 ($p < 0,05$).
4. Existe diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre el efecto antibacteriano de la concentración 60 mg/mL y 70 mg/mL del extracto hidroetanólico de *Heterotheca inuloides* Cass. (Árnica) sobre *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152.

VII. RECOMENDACIONES

1. Evaluar el efecto antibacteriano de extractos de diferentes partes de la planta *Heterotheca inuloides* Cass. (Árnica) obtenido con distintos solventes y sobre otros microorganismos de interés estomatológico.
2. Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) de los extractos de *Heterotheca inuloides* Cass. (Árnica) sobre distintos microorganismos de interés estomatológico a fin de evaluar su potencial uso en estudios in vivo.
3. Evaluar el efecto antibacteriano de los distintos tipos de extractos *Heterotheca inuloides* Cass. (Árnica) utilizando otras pruebas microbiológicas para determinar la sensibilidad de los distintos métodos.
4. En estudios posteriores, realizar el tamizaje fitoquímico cualitativo y cuantitativo de los extractos de *Heterotheca inuloides* Cass. (Árnica) a fin de establecer el potencial uso de sus principios activos en productos de uso estomatológico o clínico.
5. Evaluar la toxicidad de los extractos de *Heterotheca inuloides* Cass. (Árnica) en cultivos celulares orales para continuar contribuyendo con conocimiento científico que en un futuro cercano permita su uso seguro por la población.
6. Evaluar otras propiedades farmacológicas de los extractos de *Heterotheca inuloides* Cass. (Árnica) que potencie su uso en el campo estomatológico.

REFERENCIAS

1. GBD 2017 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet* [Internet]. 2018 [Citado 02 May 2021]; 392(10159):1789-1858. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32279-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32279-7).
2. Organización Mundial de la Salud. Salud bucodental [Internet]. 2020 [Citado 02 May 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/oral-health>.
3. Gasner NS, Schure RS. Periodontal Disease. [Actualizado 18 May 2020]. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan-. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554590/>.
4. Könönen E, Gursoy M, Gursoy UK. Periodontitis: A Multifaceted Disease of Tooth-Supporting Tissues. *J Clin Med* [Internet]. 2019 [Citado 02 May 2021]; 31;8(8):1135. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/jcm8081135>.
5. Ministerio de Salud [MINSA]. Salud Bucal. 2019. Disponible en: https://www.minsa.gob.pe/portalweb/06prevencion/prevencion_2.asp?sub5=13.
6. Tipe C, Romero-Tapia P, Sedano-Balbin G, Robles A, Gamboa E, Mayta-Tovalino F. Oral Epidemiological Profile and Risk Factors in Adolescents with Different Degrees of Down Syndrome in a Vulnerable Peruvian Rural Population. *J Contemp Dent Pract* [Internet]. 2019 [Citado 02 May 2021]; 20(6):670-674. Disponible en: <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10024-2577>.
7. Curtis MA, Diaz PI, Van Dyke TE. The role of the microbiota in periodontal disease. *Periodontol 2000* [Internet]. 2020 [Citado 02 May 2021]; 83(1):14-25. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/prd.12296>.
8. Michaud DS, Fu Z, Shi J, Chung M. Periodontal Disease, Tooth Loss, and Cancer Risk. *Epidemiol Rev* [Internet]. 2017 [Citado 02 May 2021]; 39(1):49-58. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/epirev/mxx006>.
9. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nat Rev Dis Primers* [Internet]. 2017 [Citado 02 May 2021]; 3:17038. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.38>.

10. Jasin Mansur F, Takahara S, Yamamoto M, Shimatani M, Minnatul Karim M, Noiri Y, et al. Purification and characterization of hemolysin from periodontopathogenic bacterium *Eikenella corrodens* strain 1073. *Biosci Biotechnol Biochem* [Internet]. 2017 [Citado 02 May 2021]; 81(6):1246-1253. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/09168451.2017.1295807>.
11. Almeida VSM, Azevedo J, Leal HF, Queiroz ATL, da Silva Filho HP, Reis JN. Bacterial diversity and prevalence of antibiotic resistance genes in the oral microbiome. *PLoS One* [Internet]. 2020 [Citado 02 May 2021]; 15(9):e0239664. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239664>.
12. Khalid M, Hassani D, Bilal M, Butt ZA, Hamayun M, Ahmad A, et al. Identification of oral cavity biofilm forming bacteria and determination of their growth inhibition by *Acacia arabica*, *Tamarix aphylla* L. and *Melia azedarach* L. medicinal plants. *Arch Oral Biol* [Internet]. 2017 [Citado 02 May 2021]; 81:175-185. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.05.011>.
13. Herrera-Añazco P, Taype-Rondan A, Ortiz PJ, Málaga G, Del Carpio-Toia AM, Alvarez-Valdivia MG, et al. Use of medicinal plants in patients with chronic kidney disease from Peru. *Complement Ther Med* [Internet]. 2019 [Citado 02 May 2021]; 47:102215. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2019.102215>.
14. Parham S, Kharazi AZ, Bakhsheshi-Rad HR, Nur H, Ismail AF, Sharif S, et al. Antioxidant, Antimicrobial and Antiviral Properties of Herbal Materials. *Antioxidants (Basel)* [Internet]. 2020 [Citado 02 May 2021]; 9(12):1309. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/antiox9121309>.
15. Rodríguez-Chávez JL, Egas V, Linares E, Bye R, Hernández T, Espinosa-García FJ, et al. Mexican Arnica (*Heterotheca inuloides* Cass. Asteraceae: Astereae): Ethnomedical uses, chemical constituents and biological properties. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2017 [Citado 02 May 2021]; 195:39-63. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.11.021>.
16. Cruz Martínez C, Diaz Gómez M, Oh MS. Use of traditional herbal medicine as an alternative in dental treatment in Mexican dentistry: a review. *Pharm Biol* [Internet]. 2017 [Citado 02 May 2021]; 55(1):1992-1998. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/13880209.2017.1347188>.

17. Kriplani P, Guarve K, Baghael US. Arnica montana L. - a plant of healing: review. J Pharm Pharmacol [Internet]. 2017 [Citado 02 May 2021]; 69(8):925-945. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/jphp.12724>.
18. Kryvtsova M, Koščová J. Antibiofilm-forming and antimicrobial activity of extracts of Arnica montana L., Achillea millefolium L. on bacteria genus Staphylococcus. Biotechnologia Acta [Internet]. 2020 [Citado 02 May 2021]; 13(1): 30-37. Disponible en: <https://doi.org/10.15407/biotech13.01.030>.
19. Shetty S, Shetty RM, Rahman B, Vannala V, Desai V, Shetty SR. Efficacy of Psidium guajava and Allium sativum Extracts as Antimicrobial Agents against Periodontal Pathogens. J Pharm Bioallied Sci [Internet]. 2020 [Citado 02 May 2021]; 12(1):S589-S594. Disponible en: https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_206_20.
20. Yalgi VS, Bhat KG. Antibacterial Activity of Homoeopathic Tinctures on Bacterial Strains of Streptococcus Mutans and Enterococcus Faecalis: An In vitro Study [Internet]. 2019 [Citado 02 May 2021]; 13(11):ZC01 - ZC04. Disponible en: <https://doi.org/10.7860/JCDR/2019/42190.13288>.
21. Jalaluddin M, Jayanti I, Gowdar IM, Roshan R, Varkey RR, Thirutheri A. Antimicrobial Activity of *Curcuma longa* L. Extract on Periodontal Pathogens. J Pharm Bioallied Sci [Internet]. 2019 [Citado 02 May 2021]; 11(2):S203-S207. Disponible en: https://doi.org/10.4103/JPBS.JPBS_295_18.
22. Saquib SA, AlQahtani NA, Ahmad I, Kader MA, Al Shahrani SS, Asiri EA. Evaluation and Comparison of Antibacterial Efficacy of Herbal Extracts in Combination with Antibiotics on Periodontal pathobionts: An in vitro Microbiological Study. Antibiotics (Basel) [Internet]. 2019 [Citado 02 May 2021]; 8(3):89. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/antibiotics8030089>.
23. Vahabi S, Hakemi-Vala M, Gholami S. *In vitro* Antibacterial Effect of Hydroalcoholic Extract of *Lawsonia inermis*, *Malva sylvestris*, and *Boswellia serrata* on *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Adv Biomed Res [Internet]. 2019 [Citado 02 May 2021]; 8:22. Disponible en: https://doi.org/10.4103/abr.abr_205_18.
24. Jayanti I, Jalaluddin M, Avijeeta A, Ramanna PK, Rai PM, Nair RA. *In vitro* Antimicrobial Activity of *Ocimum sanctum* (Tulsi) Extract on *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis*. J

- Contemp Dent Pract [Internet]. 2018 [Citado 02 May 2021]; 19(4):415-419. Disponible en: <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10024-2276>.
25. Shetty YS, Shankarapillai R, Vivekanandan G, Shetty RM, Reddy CS, Reddy H, et al. Evaluation of the Efficacy of Guava Extract as an Antimicrobial Agent on Periodontal Pathogens. J Contemp Dent Pract [Internet]. 2018 [Citado 02 May 2021]; 19(6):690-697. Disponible en: <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10024-2321>.
 26. Raghavan R, Devi MPS, Varghese M, Joseph A, Madhavan SS, Sreedevi PV. Effectiveness of Mentha piperita Leaf Extracts against Oral Pathogens: An in vitro Study. J Contemp Dent Pract. 2018 Sep 1;19(9):1042-1046. PMID: 30287701.
 27. García-Pérez JS, Cuéllar-Bermúdez SP, Arévalo-Gallegos A, Rodríguez-Rodríguez J, Iqbal HM, Parra-Saldivar R. Identification of Bioactivity, Volatile and Fatty Acid Profile in Supercritical Fluid Extracts of Mexican arnica. Int J Mol Sci [Internet]. 2016 [Citado 02 May 2021]; 17(9):1528. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijms17091528>.
 28. Gamonal J, Bravo J, Malheiros Z, Stewart B, Morales A, Cavalla F, et al. Periodontal disease and its impact on general health in Latin America. Section I: Introduction part I. Braz oral res [Internet]. 2020 [Citado 02 May 2021]; 34 (1): e024. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2020.vol34.0024>.
 29. Jin LJ, Lamster IB, Greenspan JS, Pitts NB, Scully C, Warnakulasuriya S. Global burden of oral diseases: emerging concepts, management and interplay with systemic health. Oral Dis [Internet]. 2016 [Citado 02 May 2021]; 22(7):609-19. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/odi.12428>.
 30. Johnson NW, Warnakulasuriya S, Greenspan J, Mori M, Baum B. 25th anniversary of oral diseases. Oral Dis [Internet]. 2020 [Citado 02 May 2021]. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/odi.13709>.
 31. Anaya-Saavedra G. Advances in oral diseases: On the shoulders of a giant. Oral Dis [Internet]. 2019 [Citado 02 May 2021]; 25(8):1840-1842. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/odi.13222>.

32. Krishnan K, Chen T, Paster BJ. A practical guide to the oral microbiome and its relation to health and disease. *Oral Dis* [Internet]. 2017 [Citado 02 May 2021]; 23(3):276-286. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/odi.12509>.
33. Kilian M, Chapple IL, Hannig M, Marsh PD, Meuric V, Pedersen AM, et al. The oral microbiome – an update for oral healthcare professionals. *Br Dent J* [Internet]. 2016 [Citado 02 May 2021]; 221(10):657–666. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2016.865>.
34. Mira A, Simon-Soro A, Curtis MA. Role of microbial communities in the pathogenesis of periodontal diseases and caries. *J Clin Periodontol* [Internet]. 2017 [Citado 02 May 2021]; 44(18):S23–S38. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/jcpe.12671>.
35. How KY, Song KP, Chan KG. Porphyromonas gingivalis: An Overview of Periodontopathic Pathogen below the Gum Line. *Front Microbiol* [Internet]. 2016 [Citado 02 May 2021]; 7:53. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00053>.
36. Mohanty R, Asopa SJ, Joseph MD, Singh B, Rajguru JP, Saidath K, Et al. Red complex: Polymicrobial conglomerate in oral flora: A review. *J Family Med Prim Care* [Internet]. 2019 [Citado 02 May 2021]; 8(11):3480-3486. Disponible en: https://doi.org/10.4103/jfmprc.jfmprc_759_19.
37. Jersie-Christensen RR, Lanigan LT, Lyon D, Mackie M, Belstrøm D, Kelstrup CD, et al. Quantitative metaproteomics of medieval dental calculus reveals individual oral health status. *Nat Commun* [Internet]. 2018 [Citado 02 May 2021]; 9(1):4744. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07148-3>.
38. Tanaka M, Araki K, Higuchi H, Fukuoka-Araki K, Horikoshi Y, Hataya H. Pediatric acute dacryocystitis due to Eikenella corrodens: A case report. *J Infect Chemother* [Internet]. 2020 [Citado 02 May 2021]; 26(5):510-512. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2019.12.014>.
39. Sharara SL, Tayyar R, Kanafani ZA, Kanj SS. HACEK endocarditis: a review. *Expert Rev Anti Infect Ther* [Internet]. 2016 [Citado 02 May 2021]; 14(6):539-45. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/14787210.2016.1184085>.
40. Szuman KM, Bodiba D, Lall N. Chapter 6 - The Role of Medicinal Plants in Oral Care. *Medicinal Plants for Holistic Health and Well-Being* . Academic Press

- [Internet]. 2018 [Citado 02 May 2021]; 183-212. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812475-8.00006-8>.
41. Hakeem KR, Abdul WM, Hussain MM, Razvi SS. Role of Medicinal Plant Species in Oral Health Sector. In: Oral Health and Herbal Medicine. Springer Briefs in Public Health. Springer Cham [Internet]. 2019 [Citado 02 May 2021]; 19-28. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-3-030-04336-0_5.
 42. Morales-Luckie RA, Lopezfuentes-Ruiz AA, Olea-Mejía OF, Liliana AF, Sanchez-Mendieta V, Brostow W, et al. Synthesis of silver nanoparticles using aqueous extracts of *Heterotheca inuloides* as reducing agent and natural fibers as templates: *Agave lechuguilla* and silk. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl [Internet]. 2016 [Citado 02 May 2021]; 69:429-36. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.06.066>.
 43. Carmona-Aparicio L, Cárdenas-Rodríguez N, Delgado-Lamas G, Pedraza-Chaverri J, Montesinos-Correa H, Rivera-Espinosa L, et al. Dose-Dependent Behavioral and Antioxidant Effects of Quercetin and Methanolic and Acetonic Extracts from *Heterotheca inuloides* on Several Rat Tissues following Kainic Acid-Induced Status Epilepticus. Oxid Med Cell Longev [Internet]. 2019 [Citado 02 May 2021]; 2019:5287507. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2019/5287507>.
 44. Schauz D. What is Basic Research? Insights from Historical Semantics. Minerva [Internet]. 2014 [Citado 02 May 2021]; 52: 273–328. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11024-014-9255-0>.
 45. Tanner K. Chapter 7 - Experimental research designs. Research Methods for Students, Academics and Professionals 2da Ed. Topics in Australasian Library and Information Studies. [Internet]. 2002 [Citado 02 May 2021]; 125-146. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-1-876938-42-0.50015-0>.
 46. Alara OR, Abdurahman NH, Olalere OA. Ethanolic extraction of flavonoids, phenolics and antioxidants from *Vernonia amygdalina* leaf using two-level factorial design. J King Saud Univ Sci [Internet]. 2020 [Citado 02 May 2021]; 32(1): 7-16. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2017.08.001>
 47. Paredes F, Roca JJ. Acción de los antibióticos. Perspectiva de la medicación antimicrobiana. OFFARM [Internet]. 2004 [Citado 02 May 2021]; 23(3): 116-

124. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-accion-antibioticos-perspectiva-medicacion-antimicrobiana-13059414>
48. International Organization for Standardization. ISO 11133 [Internet]. Ginebra: ISO; 2014 [Citado 02 May 2021]; Disponible en: <https://www.iso.org/standard/53610.html>.
49. Moosdeen F, Williams JD, Secker A. Standardization of inoculum size for disc susceptibility testing: a preliminary report of a spectrophotometric method. J Antimicrob Chemother [Internet]. 1988 [Citado 02 May 2021]; 21(4):439-43. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/jac/21.4.439>.
50. Abubakar AR, Haque M. Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. J Pharm Bioallied Sci [Internet]. 2020 [Citado 02 May 2021]; 12(1):1-10. Disponible en: https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19.
51. CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 28th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
52. Humphries RM, Kircher S, Ferrell A, Krause KM, Malherbe R, Hsiung A, et al. The Continued Value of Disk Diffusion for Assessing Antimicrobial Susceptibility in Clinical Laboratories: Report from the Clinical and Laboratory Standards Institute Methods Development and Standardization Working Group. J Clin Microbiol [Internet]. 2018 [Citado 02 May 2021]; 56(8):e00437-18. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/JCM.00437-18>.
53. Steel RG, Torrie FJ. *Bioestadística: Principios y Procedimientos*. 2da Ed. (1ra en español) Edit. McGraw-Hill. México. 1988. 622p.
54. Ministerio de Salud. *Manual de Procedimientos Bioseguridad en Laboratorios de Ensayo, Biomédicos y Clínicos*. Perú: Instituto Nacional de Salud [Internet]. 2005 [Citado 02 May 2021]; 109 p. Disponible en: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/minsa/1669.pdf>
55. Organización Mundial de la Salud. *Manual de Bioseguridad en el Laboratorio*. Ginebra [Internet]. 2005 [citado 22 oct 2020]; 223 p. Disponible en: https://www.who.int/topics/medical_waste/manual_bioseguridad_laboratorio.pdf

ANEXOS

ANEXO 1

MATRIZ DE OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicador	Escala
Extracto hidroetanólico de <i>Heterotheca inuloides</i> Cass. (Árnica).	Producto total obtenido a partir de la exposición del material vegetal seco de <i>H. inuloides</i> a una mezcla hidroalcohólica y que contiene los fitoquímicos de la matriz vegetal. ⁴⁶	Cantidad en mg del extracto seco total de las flores de <i>Heterotheca inuloides</i> Cass. (Árnica) diluida en un solvente inerte DMSO 1%.	Concentración mg/mL	30 mg/mL 40 mg/mL 50 mg/mL 60 mg/mL 70 mg/mL	De Razón
Efecto antibacteriano in vitro sobre <i>Eikenella corrodens</i> ATCC BAA-1152	Capacidad de un antimicrobiano de inhibir de forma temporal (Efecto bacteriostático) o de forma permanente (Efecto bactericida) el desarrollo de <i>E. corrodens</i> ATCC BAA-1152. ⁴⁷	Formación o ausencia de halo de inhibición de <i>E. corrodens</i> ATCC BAA-1152 al ser enfrentada a cinco concentraciones del extracto hidroetanólico de <i>Heterotheca inuloides</i> Cass. (Árnica) por el método de difusión en disco.	Sin efecto Efecto Bacteriostático Efecto bactericida	Halos de Inhibición 0 mm = Sin efecto < 14 mm = Efecto bacteriostático ≥ 16 mm = Efecto bactericida	De Razón

ANEXO 2

CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLANTA

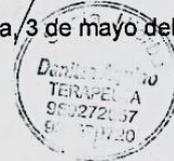
HIERBELLA HERBOLESTERIA

CONSTANCIA

Yo, Danitza Lourdes Aquino Cajchaya, Fito naturista y Herbaria de
CONSTANCIA, que al Sr. Angel José Cornejo Recoba identificado con
DNI: 71489563 y a la Srta. Hania Alexandra Pinto Benel con DNI: 70004784, se
les entrego 1 kilo de muestra de planta Árnica para la realización de su Tesis a
ejecutar sobre el: Efecto antibacteriano in vitro de extracto etanólico de la planta
Árnica cuyo nombre científico es: *Heterotheca inuloides* Cass.

Se le expide esta constancia a solicitud de los interesados para los fines de
realización de su tesis.

Arequipa, 3 de mayo del 2021



ANEXO 3

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS



SCIENCE EXPERIMENT
Research Laboratory

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

REPETICIONES	HALOS DE INHIBICIÓN EN mm						
	30 mg/mL	40 mg/mL	50 mg/mL	60 mg/mL	70 mg/mL	Clorhexidina 0,12%	DMSO 1%
1	11,3	13,1	15,9	20,6	26,6	16,10	0,00
2	10,9	13,1	15,6	19,5	24,9	15,40	0,00
3	10,5	12,7	14,8	18,9	24,7	15,30	0,00
4	10,7	12,4	14,6	18,7	25,3	15,50	0,00
5	10,6	12,2	14,5	18,9	24,5	15,20	0,00
6	11,1	12,2	14,4	19,2	25,3	15,20	0,00
7	11,2	12,5	14,6	20,2	25,5	16,40	0,00
8	10,8	12,4	14,8	20,4	24,2	16,10	0,00
9	10,5	12,8	15,7	19,8	26,1	16,20	0,00
10	11,4	12,9	14,6	20,3	26,5	14,40	0,00

Rubi J. Espinola Aguirre

Biólogo Microbiólogo

C.B.P 8258



ANEXO 4

CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA

En la presente investigación se aplicó la fórmula para la determinación del número de unidades de ensayo (repeticiones) en estudios experimentales:

$$n = \frac{W - W^2 \cdot Z_{\beta} + 1,4 \cdot Z_{\alpha}^2}{W^2}$$

Dónde:

n: Número mínimo de réplicas que deben hacerse en el estudio.

Z α : Valor correspondiente al nivel de confianza asignado.

Z β : Valor correspondiente al valor estadístico.

W: Eficiencia mínima esperada o diferencia mínima observable.

$$n = \frac{W - W^2 \cdot Z_{\beta} + 1,4 \cdot Z_{\alpha}^2}{W^2}$$
$$n = \frac{0,8 - (0,8)^2 \cdot (0,842) + 1,4 (1,96)^2}{(0,8)^2}$$
$$n = \frac{0,8 - (0,64) \cdot (0,842) + 1,4 (3,842)}{0,64}$$
$$n = 8$$

Reemplazando los valores en la fórmula se obtiene que el número de replicaciones necesarias son 8. Para efectos del presente estudio y con la finalidad de reducir el error se decidió trabajar con 9 repeticiones por cada ensayo original. Debido a que fueron 7 grupos (5 concentraciones y dos controles) el total de unidades de ensayo fue 70.

ANEXO 5

CONSTANCIA DE EJECUCIÓN EXPERTO MICROBIÓLOGO



SCIENCE EXPERIMENT
Research Laboratory

CONSTANCIA

La que suscribe, **Rubi Jackeline Espinola Aguirre** identificada con **DNI N° 43303261**, Biólogo Microbiólogo, especialista en Análisis Clínico y biológicos con CBP N° 8258; hace constar que ha colaborado como microbiólogo especialista en la ejecución de la investigación titulada: **"EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE *Heterotheca inuloides* Cass. (ÁRNICA) SOBRE *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152"**, de los Sres. **Cornejo Recoba Angel José**, identificado con **DNI N° 71489563** y **Pinto Benel Hania Alexsandra**, identificada con **DNI N° 70004784**, egresados de la carrera de estomatología y estudiantes del Taller de Titulación para Universidades No Licenciadas de la Universidad César Vallejo. La ejecución de la investigación fue realizada del 03 y el 15 de mayo del 2021 en el Laboratorio de investigación *Science Experiment E.I.R.L.*, de la Ciudad de Trujillo.

Se expide la presente a solicitud de los interesados, para los fines que estimen conveniente.

Trujillo, 17 de mayo de 2021.



Rubi J. Espinola Aguirre
Biólogo Microbiólogo
C.B.P 8258



ANEXO 6

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Resumen de procesamiento de casos							
	Concentración extracto / Control	Casos					
		Válido		Perdidos		Total	
		N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
Diámetro de halo de inhibición	30 mg/mL	10	100,0%	0	0,0%	10	100,0%
	40 mg/mL	10	100,0%	0	0,0%	10	100,0%
	50 mg/mL	10	100,0%	0	0,0%	10	100,0%
	60 mg/mL	10	100,0%	0	0,0%	10	100,0%
	70 mg/mL	10	100,0%	0	0,0%	10	100,0%
	Clorhexidina 0,12%	10	100,0%	0	0,0%	10	100,0%
	DMSO 1%	10	100,0%	0	0,0%	10	100,0%

Descriptivos					
	Concentración extracto / Control		Estadístico	Error estándar	
Diámetro de halo de inhibición	30 mg/mL	Media	10,9000	,10541	
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	10,6615	
			Límite superior	11,1385	
		Media recortada al 5%	10,8944		
		Mediana	10,8500		
		Varianza	,111		
		Desviación estándar	,33333		
		Mínimo	10,50		
		Máximo	11,40		
		Rango	,90		
		Rango intercuartil	,65		
		Asimetría	,225	,687	
		Curtosis	-1,532	1,334	
		40 mg/mL	Media	12,6300	,10755
	95% de intervalo de confianza para la media		Límite inferior	12,3867	
			Límite superior	12,8733	
	Media recortada al 5%		12,6278		
	Mediana		12,6000		
	Varianza		,116		
	Desviación estándar		,34010		
	Mínimo		12,20		
	Máximo		13,10		
	Rango		,90		
	Rango intercuartil		,60		
	Asimetría		,166	,687	
	Curtosis		-1,435	1,334	
	50 mg/mL		Media	14,9500	,17654
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	14,5506	
			Límite superior	15,3494	
		Media recortada al 5%	14,9278		
Mediana		14,7000			
Varianza		,312			
Desviación estándar	,55827				

		Mínimo		14,40	
		Máximo		15,90	
		Rango		1,50	
		Rango intercuartil		1,05	
		Asimetría		,927	,687
		Curtosis		-,996	1,334
	60 mg/mL	Media		19,6500	,22274
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	19,1461	
			Límite superior	20,1539	
		Media recortada al 5%		19,6500	
		Mediana		19,6500	
		Varianza		,496	
		Desviación estándar		,70435	
		Mínimo		18,70	
		Máximo		20,60	
		Rango		1,90	
		Rango intercuartil		1,43	
		Asimetría		-,029	,687
		Curtosis		-1,776	1,334
	70 mg/mL	Media		25,3600	,26128
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	24,7689	
			Límite superior	25,9511	
		Media recortada al 5%		25,3556	
		Mediana		25,3000	
		Varianza		,683	
		Desviación estándar		,82624	
		Mínimo		24,20	
		Máximo		26,60	
		Rango		2,40	
		Rango intercuartil		1,55	
		Asimetría		,299	,687
		Curtosis		-1,086	1,334
	Clorhexidin a 0,12%	Media		15,5800	,19425
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	15,1406	
			Límite superior	16,0194	
		Media recortada al 5%		15,6000	
		Mediana		15,4500	
		Varianza		,377	
		Desviación estándar		,61427	
		Mínimo		14,40	
		Máximo		16,40	
		Rango		2,00	
		Rango intercuartil		,93	
		Asimetría		-,426	,687
		Curtosis		-,149	1,334
	DMSO 1%	Media		1,0000	,00000
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	1,0000	
			Límite superior	1,0000	
		Media recortada al 5%		1,0000	
		Mediana		1,0000	

	Varianza	,000	
	Desviación estándar	,00000	
	Mínimo	1,00	
	Máximo	1,00	
	Rango	,00	
	Rango intercuartil	,00	
	Asimetría	.	.
	Curtosis	.	.

Prueba de normalidad				
	Concentración extracto / Control	Kolmogorov-Smirnov ^a		
		Estadístico	gl	Sig.
Diámetro de halo de inhibición	30 mg/mL	,126	10	,200*
	40 mg/mL	,151	10	,200*
	50 mg/mL	,306	10	,009
	60 mg/mL	,183	10	,200*
	70 mg/mL	,133	10	,200*
	Clorhexidina 0,12%	,201	10	,200*
	DMSO 1%	.	10	.
	*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.			
a. Corrección de significación de Lilliefors				

Gráficos Q-Q normales

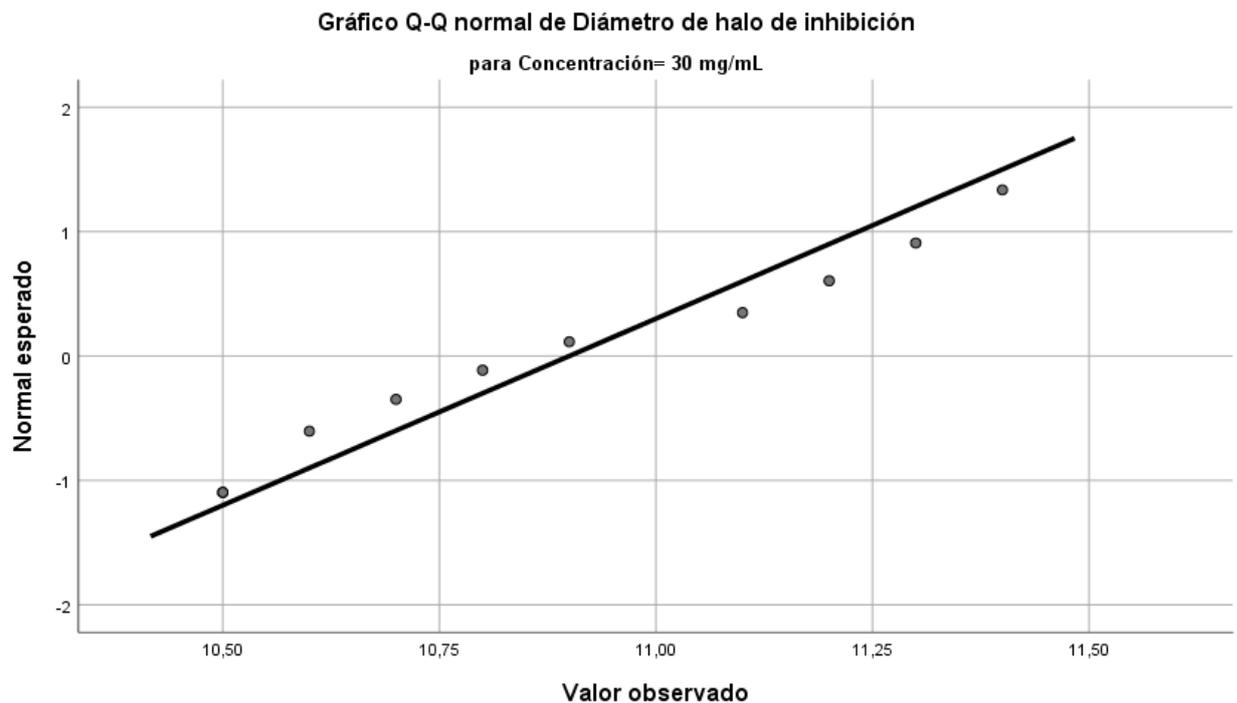


Gráfico Q-Q normal de Diámetro de halo de inhibición
para Concentración= 40 mg/mL

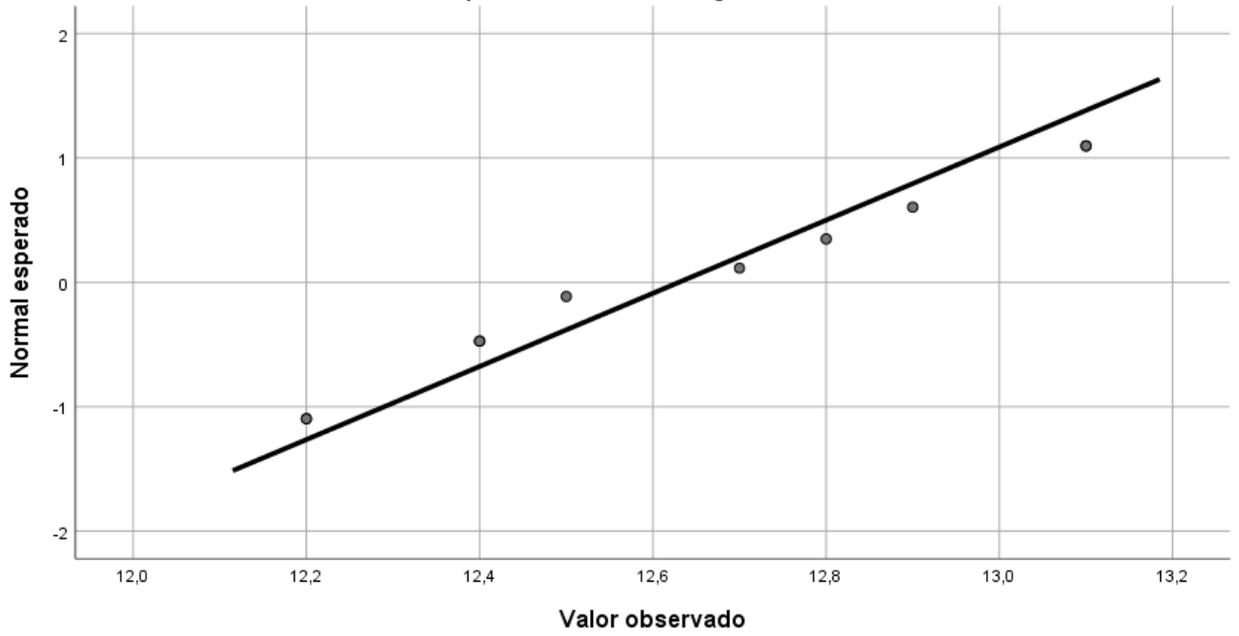


Gráfico Q-Q normal de Diámetro de halo de inhibición
para Concentración= 50 mg/mL

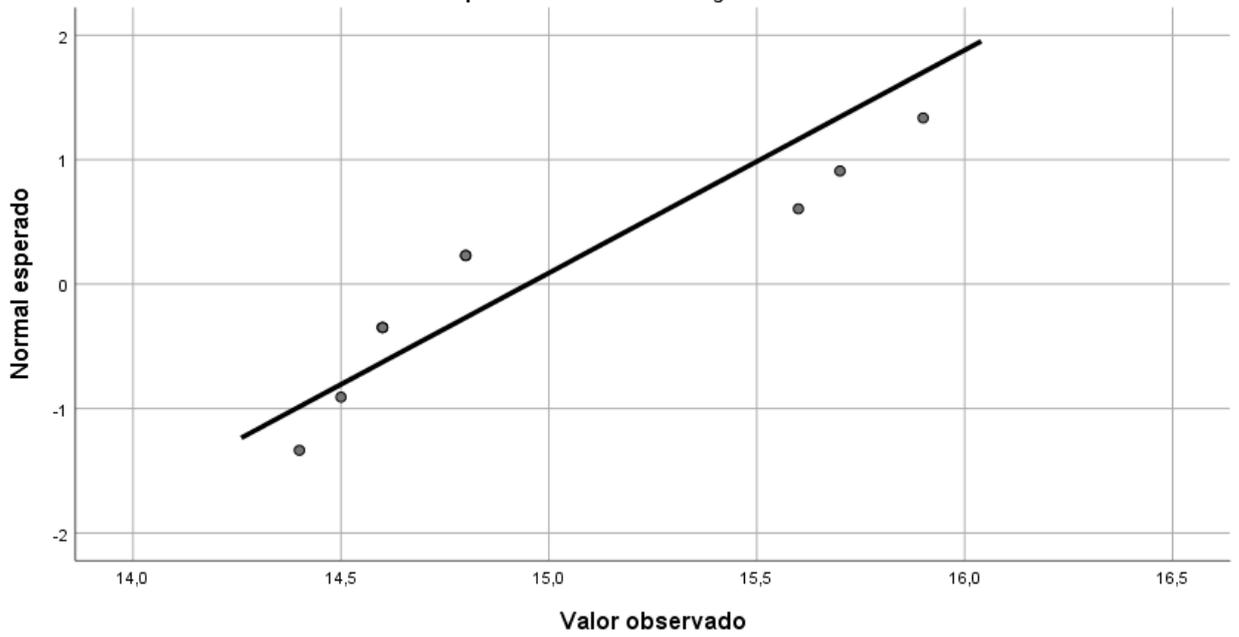


Gráfico Q-Q normal de Diámetro de halo de inhibición
para Concentración= 60 mg/mL

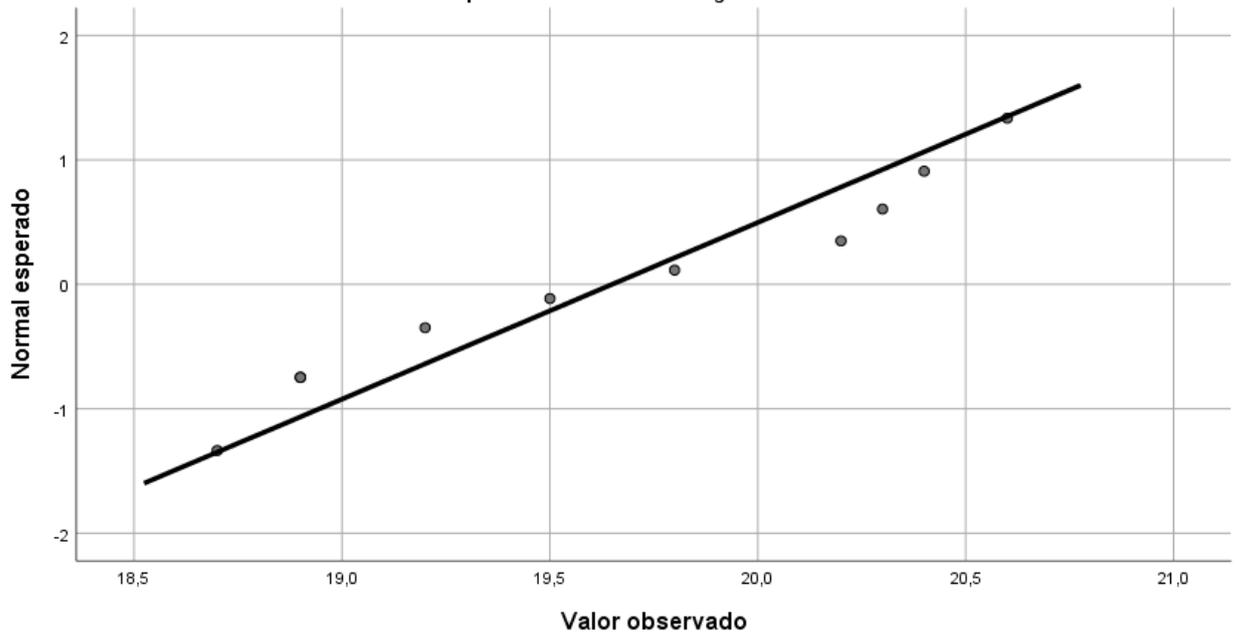


Gráfico Q-Q normal de Diámetro de halo de inhibición
para Concentración= 70 mg/mL

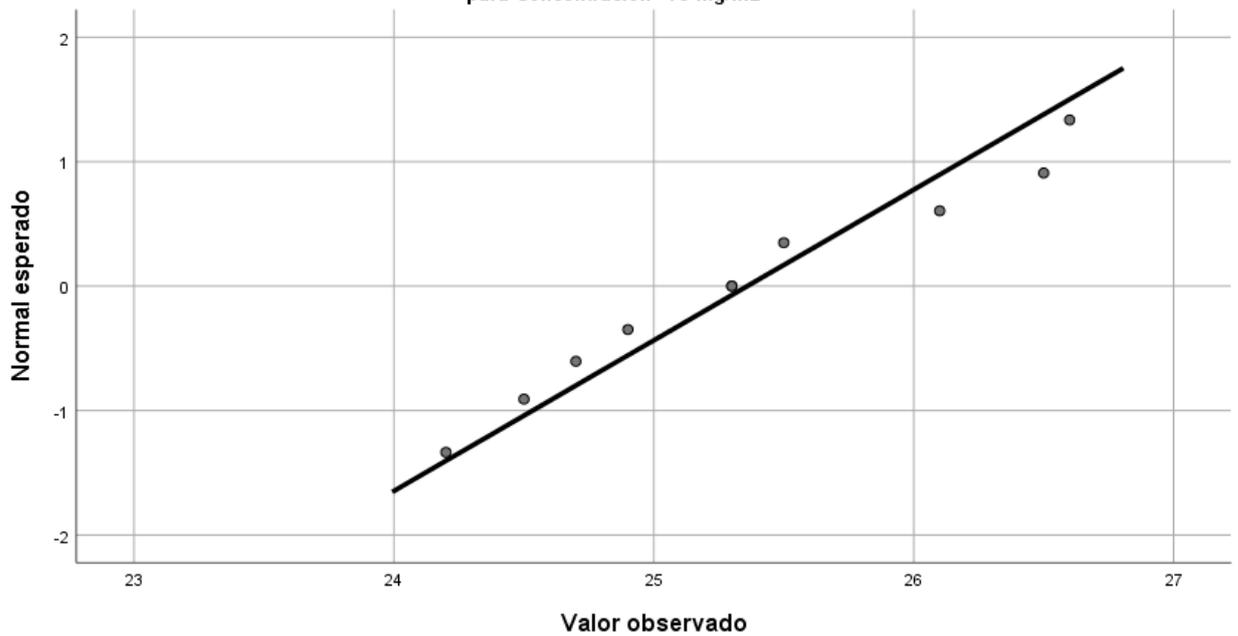


Gráfico Q-Q normal de Diámetro de halo de inhibición
para Concentración= Clorhexidina 0,12%

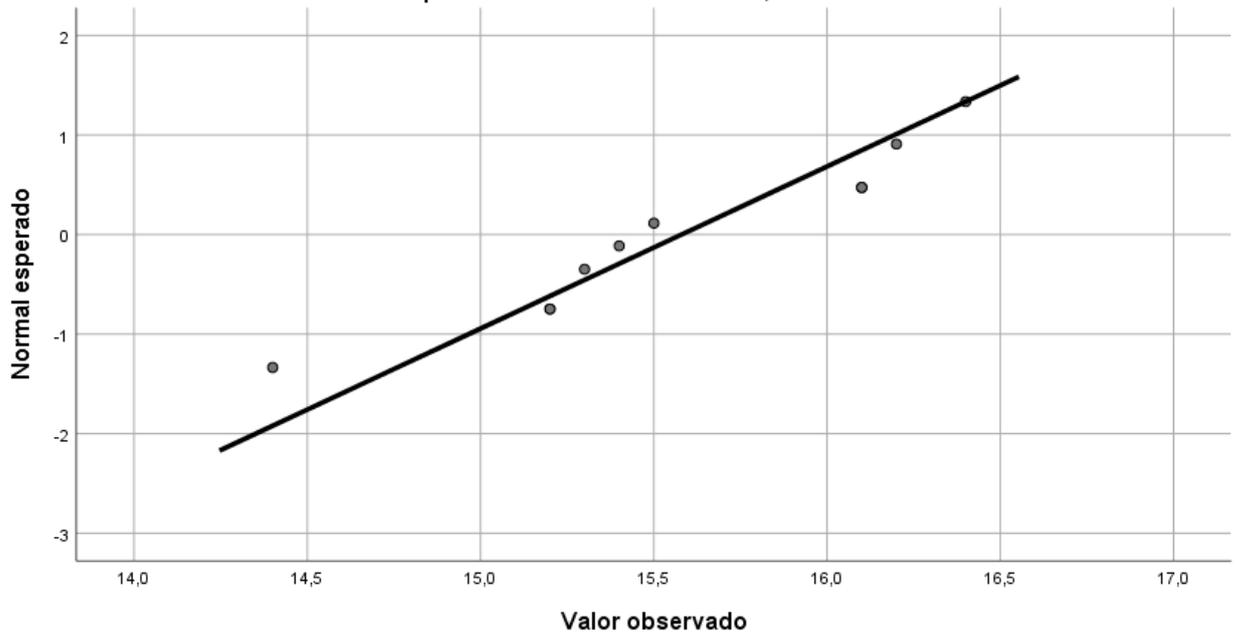
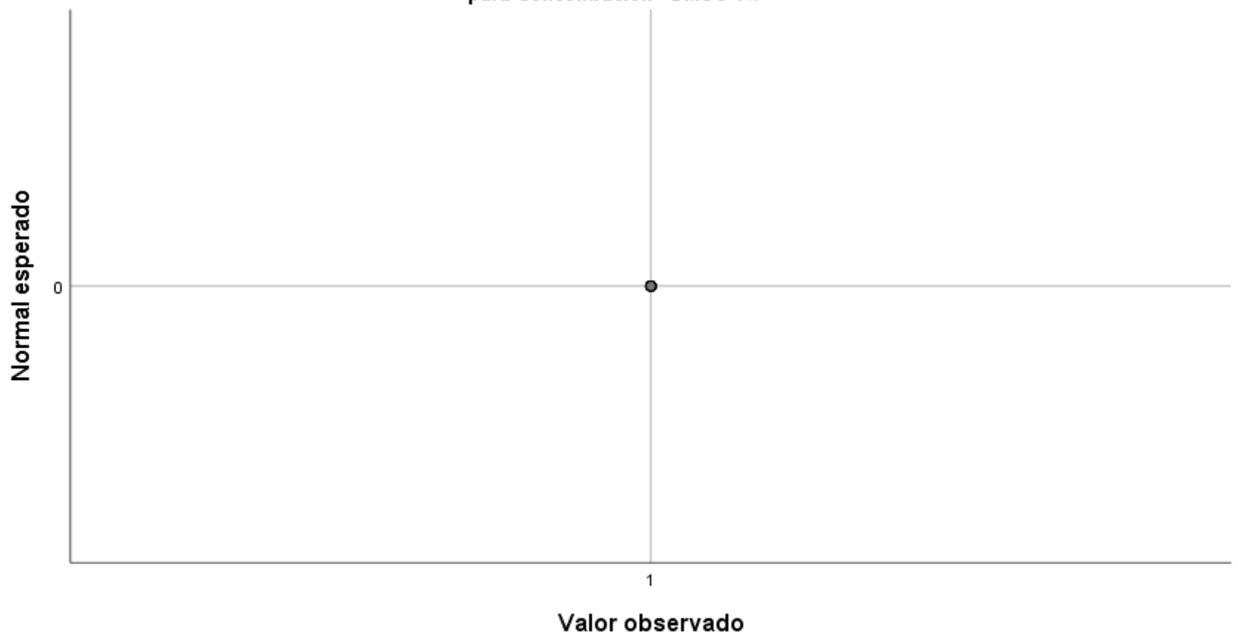


Gráfico Q-Q normal de Diámetro de halo de inhibición
para Concentración= DMSO 1%



Gráficos Q-Q normales sin tendencia

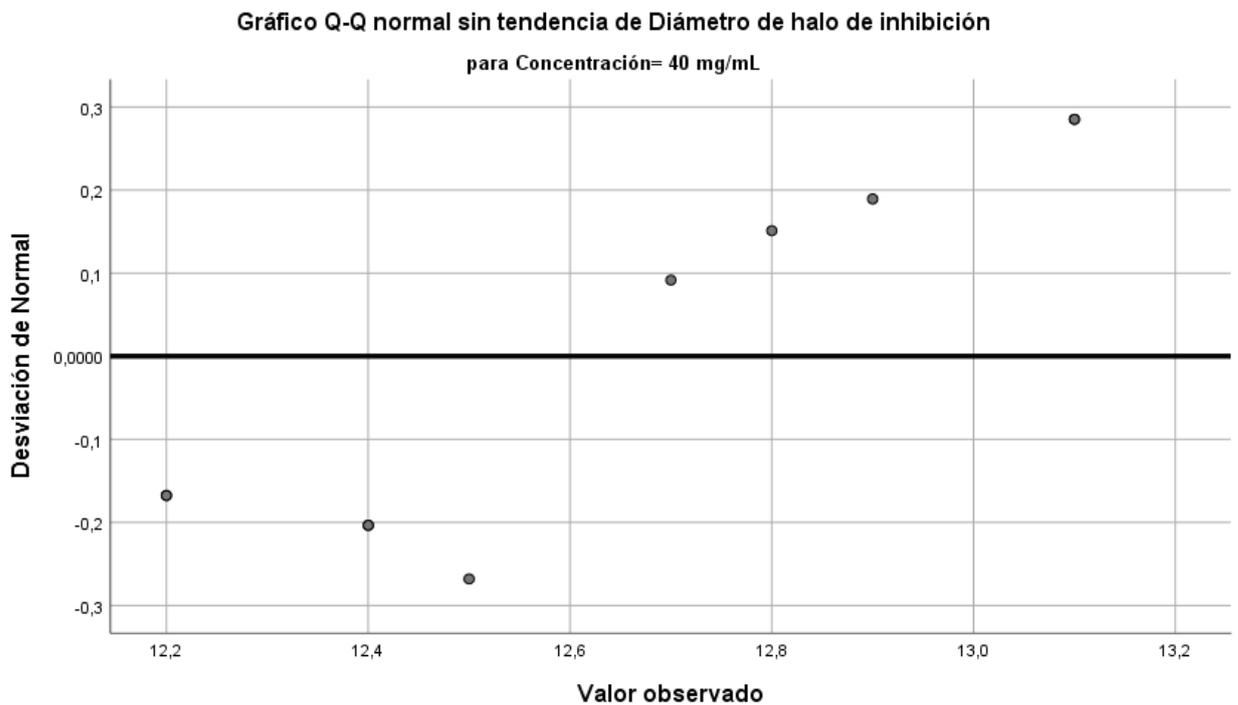
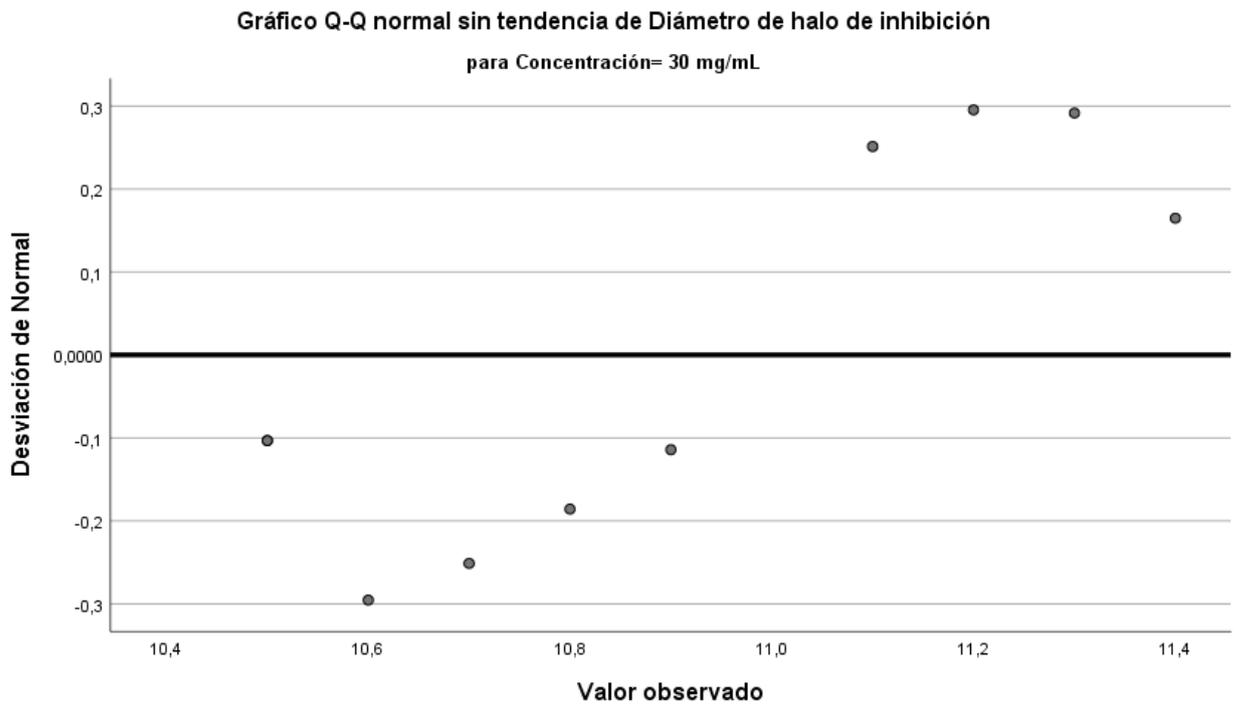


Gráfico Q-Q normal sin tendencia de Diámetro de halo de inhibición
para Concentración= 50 mg/mL

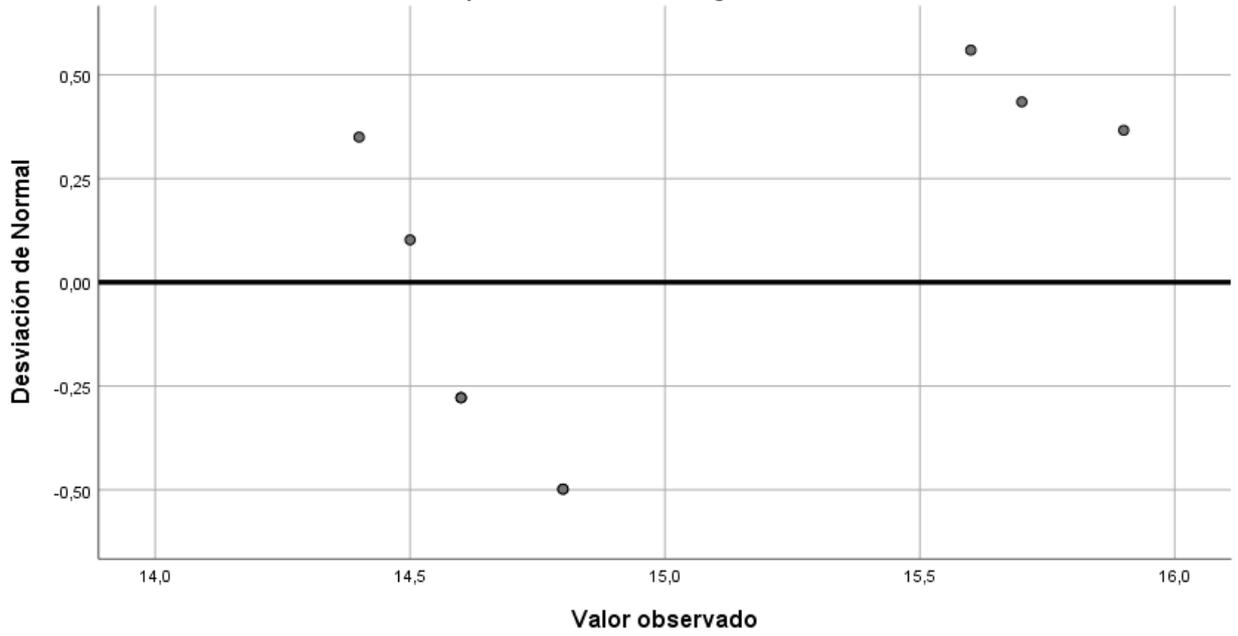


Gráfico Q-Q normal sin tendencia de Diámetro de halo de inhibición
para Concentración= 60 mg/mL

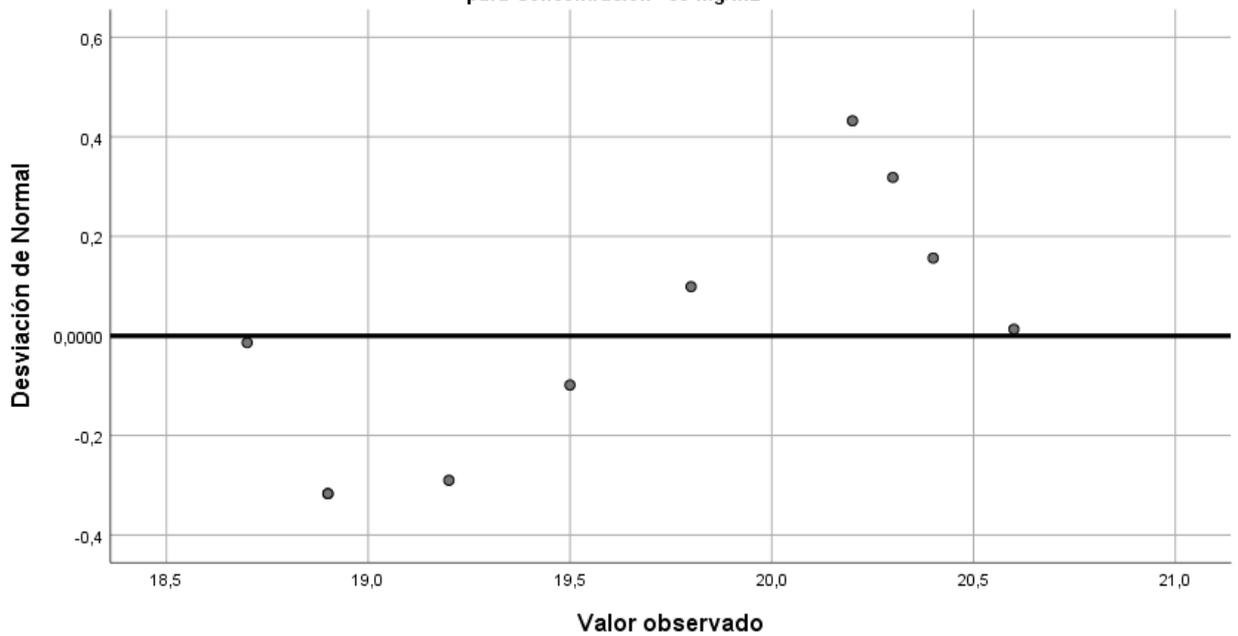


Gráfico Q-Q normal sin tendencia de Diámetro de halo de inhibición
para Concentración= 70 mg/mL

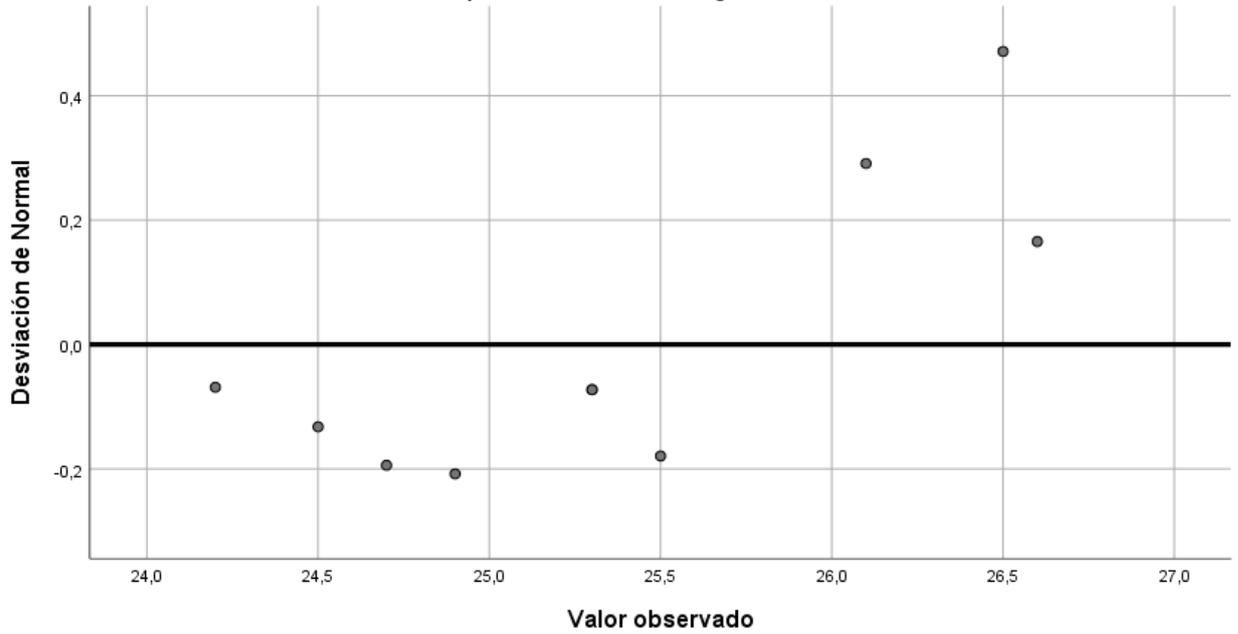


Gráfico Q-Q normal sin tendencia de Diámetro de halo de inhibición
para Concentración= Clorhexidina 0,12%

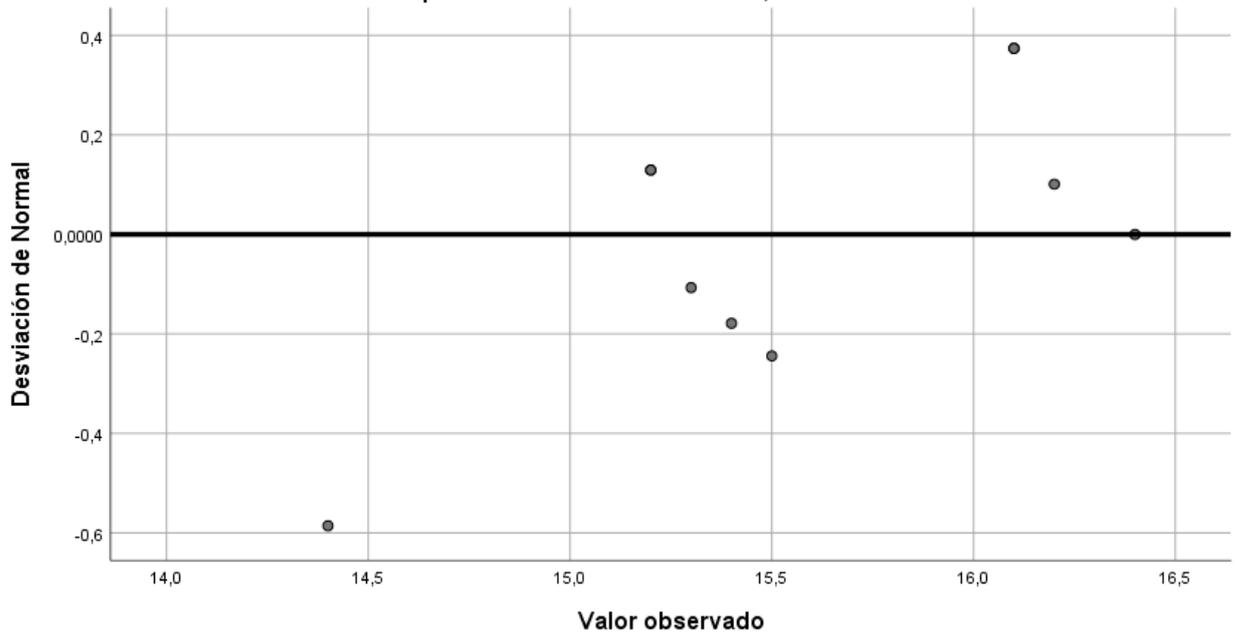
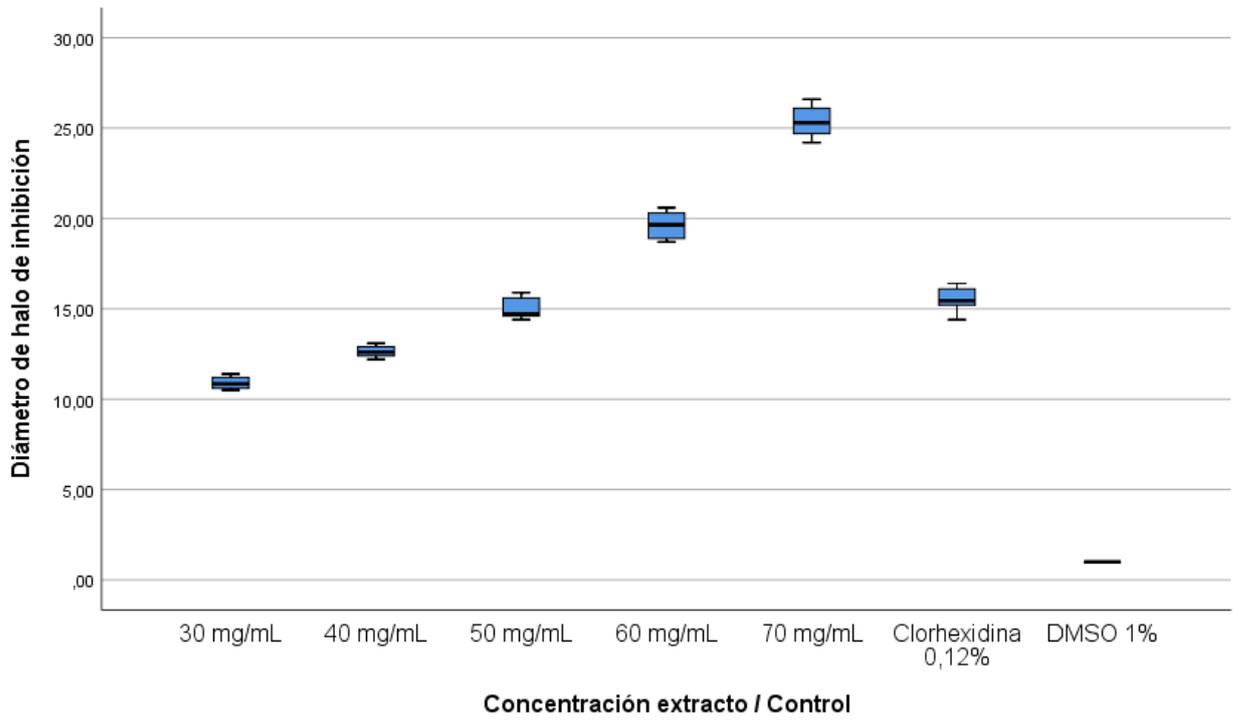
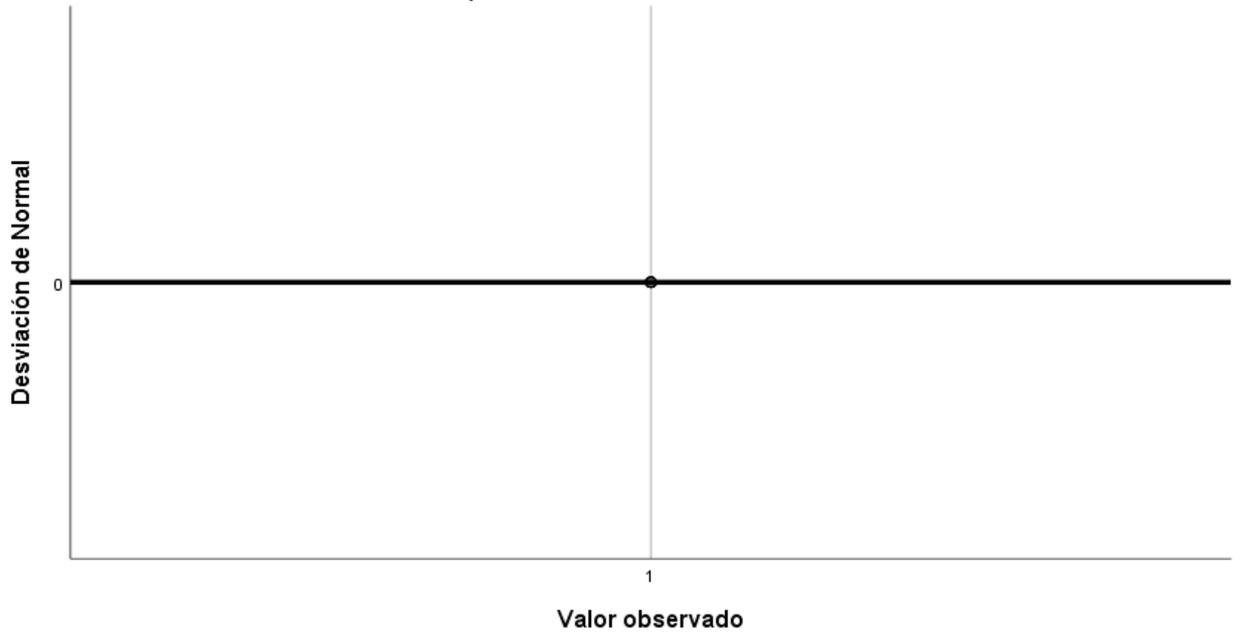


Gráfico Q-Q normal sin tendencia de Diámetro de halo de inhibición
para Concentración= DMSO 1%



Descriptivos								
Diámetro de halo de inhibición								
	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
30 mg/mL	10	10,9000	,33333	,10541	10,6615	11,1385	10,50	11,40
40 mg/mL	10	12,6300	,34010	,10755	12,3867	12,8733	12,20	13,10
50 mg/mL	10	14,9500	,55827	,17654	14,5506	15,3494	14,40	15,90
60 mg/mL	10	19,6500	,70435	,22274	19,1461	20,1539	18,70	20,60
70 mg/mL	10	25,3600	,82624	,26128	24,7689	25,9511	24,20	26,60
Clorhexidina 0,12%	10	15,5800	,61427	,19425	15,1406	16,0194	14,40	16,40
DMSO 1%	10	1,0000	,00000	,00000	1,0000	1,0000	1,00	1,00
Total	70	14,2957	7,08265	,84654	12,6069	15,9845	1,00	26,60

Prueba de homogeneidad de varianzas					
		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Diámetro de halo de inhibición	Se basa en la media	7,059	6	63	,000
	Se basa en la mediana	4,902	6	63	,000
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	4,902	6	36,885	,001
	Se basa en la media recortada	6,943	6	63	,000

ANOVA					
Diámetro de halo de inhibición					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	3442,458	6	573,743	1917,448	,000
Dentro de grupos	18,851	63	,299		
Total	3461,309	69			

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples								
Variable dependiente: Diámetro de halo de inhibición								
HSD Tukey	(I) Concentración extracto / Control	(J) Concentración extracto / Control	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	Límite inferior	Límite superior
	30 mg/mL	40 mg/mL	-1,73000*	,24463	,000	-2,4751	-,9849	
		50 mg/mL	-4,05000*	,24463	,000	-4,7951	-3,3049	
		60 mg/mL	-8,75000*	,24463	,000	-9,4951	-8,0049	
		70 mg/mL	-14,46000*	,24463	,000	-15,2051	-13,7149	
		Clorhexidina 0,12%	-4,68000*	,24463	,000	-5,4251	-3,9349	
		DMSO 1%	9,90000*	,24463	,000	9,1549	10,6451	
	40 mg/mL	30 mg/mL	1,73000*	,24463	,000	,9849	2,4751	
		50 mg/mL	-2,32000*	,24463	,000	-3,0651	-1,5749	
		60 mg/mL	-7,02000*	,24463	,000	-7,7651	-6,2749	
		70 mg/mL	-12,73000*	,24463	,000	-13,4751	-11,9849	
		Clorhexidina 0,12%	-2,95000*	,24463	,000	-3,6951	-2,2049	
		DMSO 1%	11,63000*	,24463	,000	10,8849	12,3751	
	50 mg/mL	30 mg/mL	4,05000*	,24463	,000	3,3049	4,7951	
		40 mg/mL	2,32000*	,24463	,000	1,5749	3,0651	
		60 mg/mL	-4,70000*	,24463	,000	-5,4451	-3,9549	
		70 mg/mL	-10,41000*	,24463	,000	-11,1551	-9,6649	
		Clorhexidina 0,12%	-,63000	,24463	,151	-1,3751	,1151	
		DMSO 1%	13,95000*	,24463	,000	13,2049	14,6951	
	60 mg/mL	30 mg/mL	8,75000*	,24463	,000	8,0049	9,4951	

		40 mg/mL	7,02000*	,24463	,000	6,2749	7,7651
		50 mg/mL	4,70000*	,24463	,000	3,9549	5,4451
		70 mg/mL	-5,71000*	,24463	,000	-6,4551	-4,9649
		Clorhexidina 0,12%	4,07000*	,24463	,000	3,3249	4,8151
		DMSO 1%	18,65000*	,24463	,000	17,9049	19,3951
	70 mg/mL	30 mg/mL	14,46000*	,24463	,000	13,7149	15,2051
	70 mg/mL	40 mg/mL	12,73000*	,24463	,000	11,9849	13,4751
	70 mg/mL	50 mg/mL	10,41000*	,24463	,000	9,6649	11,1551
	70 mg/mL	60 mg/mL	5,71000*	,24463	,000	4,9649	6,4551
	70 mg/mL	Clorhexidina 0,12%	9,78000*	,24463	,000	9,0349	10,5251
	70 mg/mL	DMSO 1%	24,36000*	,24463	,000	23,6149	25,1051
	Clorhexidina 0,12%	30 mg/mL	4,68000*	,24463	,000	3,9349	5,4251
	Clorhexidina 0,12%	40 mg/mL	2,95000*	,24463	,000	2,2049	3,6951
	Clorhexidina 0,12%	50 mg/mL	,63000	,24463	,151	-,1151	1,3751
	Clorhexidina 0,12%	60 mg/mL	-4,07000*	,24463	,000	-4,8151	-3,3249
	Clorhexidina 0,12%	70 mg/mL	-9,78000*	,24463	,000	-10,5251	-9,0349
	Clorhexidina 0,12%	DMSO 1%	14,58000*	,24463	,000	13,8349	15,3251
	DMSO 1%	30 mg/mL	-9,90000*	,24463	,000	-10,6451	-9,1549
	DMSO 1%	40 mg/mL	-11,63000*	,24463	,000	-12,3751	-10,8849
	DMSO 1%	50 mg/mL	-13,95000*	,24463	,000	-14,6951	-13,2049
	DMSO 1%	60 mg/mL	-18,65000*	,24463	,000	-19,3951	-17,9049
	DMSO 1%	70 mg/mL	-24,36000*	,24463	,000	-25,1051	-23,6149
	DMSO 1%	Clorhexidina 0,12%	-14,58000*	,24463	,000	-15,3251	-13,8349

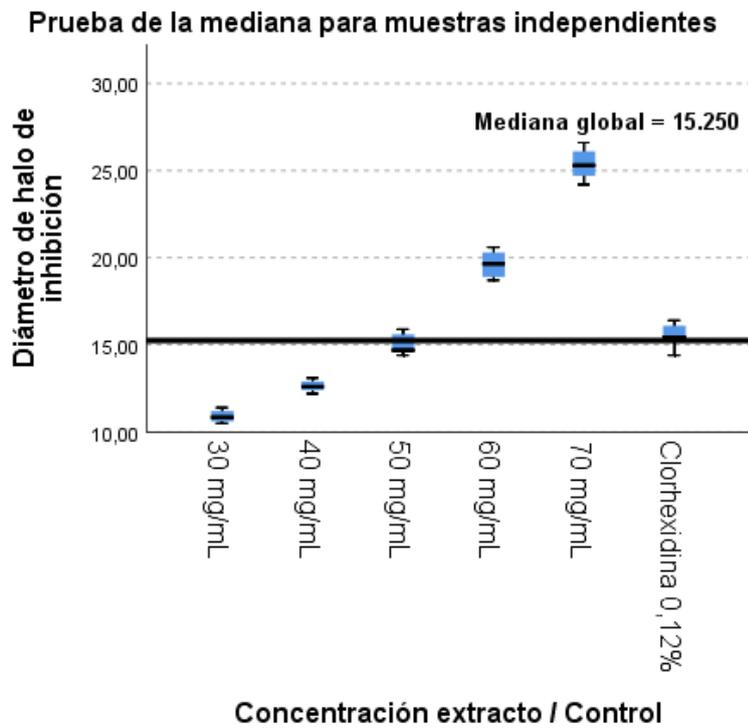
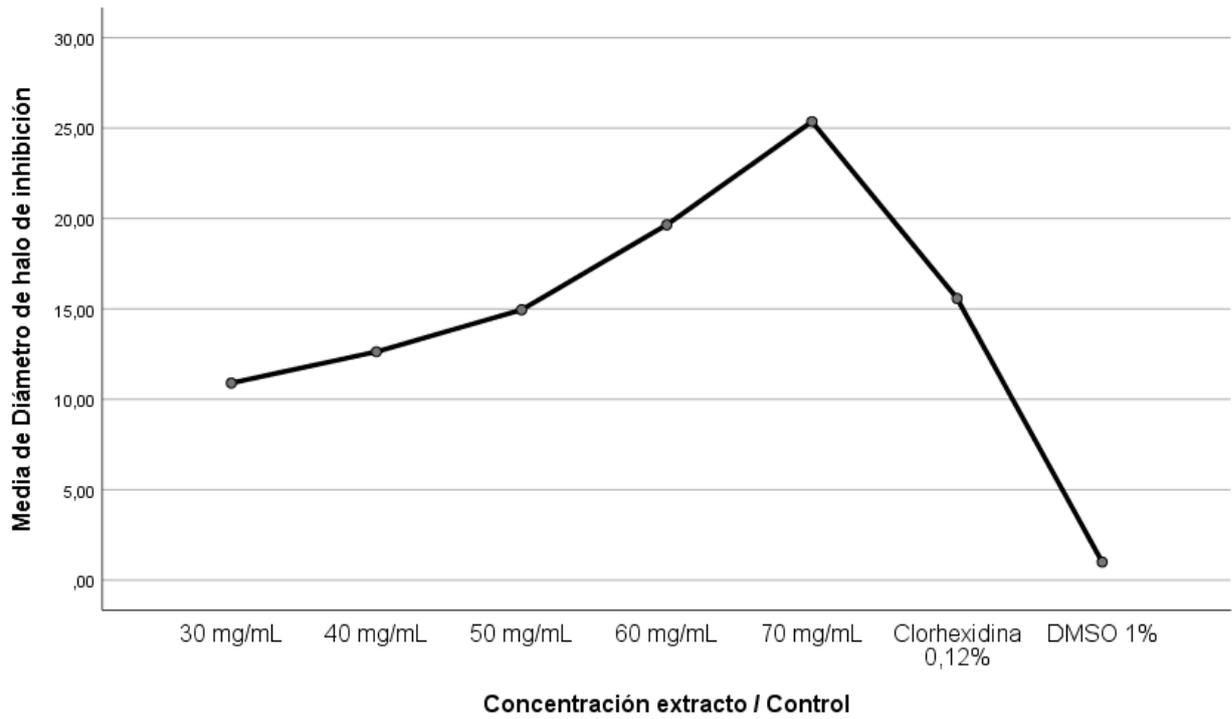
*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Subconjuntos homogéneos

Diámetro de halo de inhibición									
	Concentración extracto / Control	N	Subconjunto para alfa = 0.05						
			1	2	3	4	5	6	7
HSD Tukey ^a	DMSO 1%	10	1,0000						
	30 mg/mL	10		10,9000					
	40 mg/mL	10			12,6300				
	50 mg/mL	10				14,9500			
	Clorhexidina 0,12%	10				15,5800			
	60 mg/mL	10					19,6500		
	70 mg/mL	10						25,3600	
	Sig.			1,000	1,000	1,000	,151	1,000	1,000
Duncan ^a	DMSO 1%	10	1,0000						
	30 mg/mL	10		10,9000					
	40 mg/mL	10			12,6300				
	50 mg/mL	10				14,9500			
	Clorhexidina 0,12%	10					15,5800		
	60 mg/mL	10						19,6500	
	70 mg/mL	10							25,3600
	Sig.			1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 10,000.

Gráficos de medias



**Comparaciones por parejas de Concentración extracto /
Control**

Sample 1-Sample 2	Estadístico de prueba	Sig.	Sig. ajustada ^a
30 mg/mL-40 mg/mL	20,000	,000	,000
30 mg/mL-50 mg/mL	20,000	,000	,000
30 mg/mL-Clorhexidina 0,12%	20,000	,000	,000
30 mg/mL-60 mg/mL	20,000	,000	,000
30 mg/mL-70 mg/mL	20,000	,000	,000
40 mg/mL-50 mg/mL	20,000	,000	,000
40 mg/mL-Clorhexidina 0,12%	20,000	,000	,000
40 mg/mL-60 mg/mL	20,000	,000	,000
40 mg/mL-70 mg/mL	20,000	,000	,000
50 mg/mL-Clorhexidina 0,12%	3,200	,074	1,000
50 mg/mL-60 mg/mL	20,000	,000	,000
50 mg/mL-70 mg/mL	20,000	,000	,000
Clorhexidina 0,12%-60 mg/mL	20,000	,000	,000
Clorhexidina 0,12%-70 mg/mL	20,000	,000	,000
60 mg/mL-70 mg/mL	20,000	,000	,000

U de Mann-Whitney

Cada fila prueba la hipótesis nula que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son iguales.

Se visualizan las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es de ,05.

a. Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección Bonferroni para varias pruebas.

ANEXO 7

GALERÍA FOTOGRÁFICA PROCEDIMIENTO

MATERIALES, EQUIPOS E INSUMOS



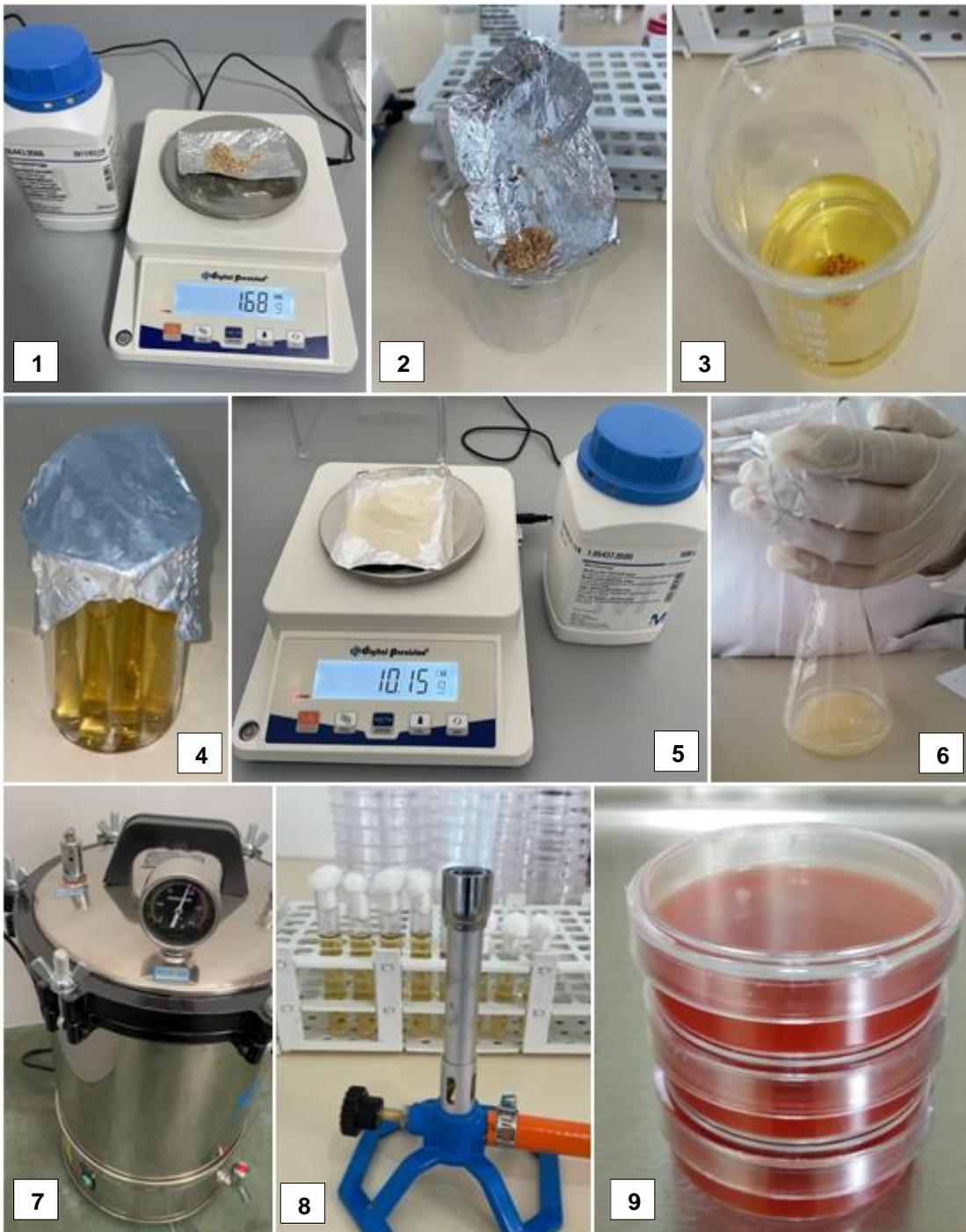
1	Material vegetal de Árnica.	7	Agitador magnético temperado
2	Flores de árnica seleccionadas.	8	Agua destilada
3	Balanza analítica y vernier.	9	Cepa estándar de <i>E. corrodens</i> .
4	Molino artesanal	10	Agar Mueller-Hinton Millipore
5	Estufa microbiológica y autoclave	11	Hisopo estéril
6	Espectrofotómetro vis	12	Etanol absoluto

OBTENCIÓN DE EXTRACTO



1	Material vegetal de Árnica.	7	Maceración en agitación.
2	Flores de árnica seleccionadas.	8	Decantación de extracto.
3	Molienda de material vegetal.	9	Filtración de extracto.
4	Pesado de material vegetal molido	10	Extracto total filtrado
5	Secado adicional material vegetal	11	Secado de extracto en estufa.
6	Incorporación de solvente al extracto y mezcla.		

PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO



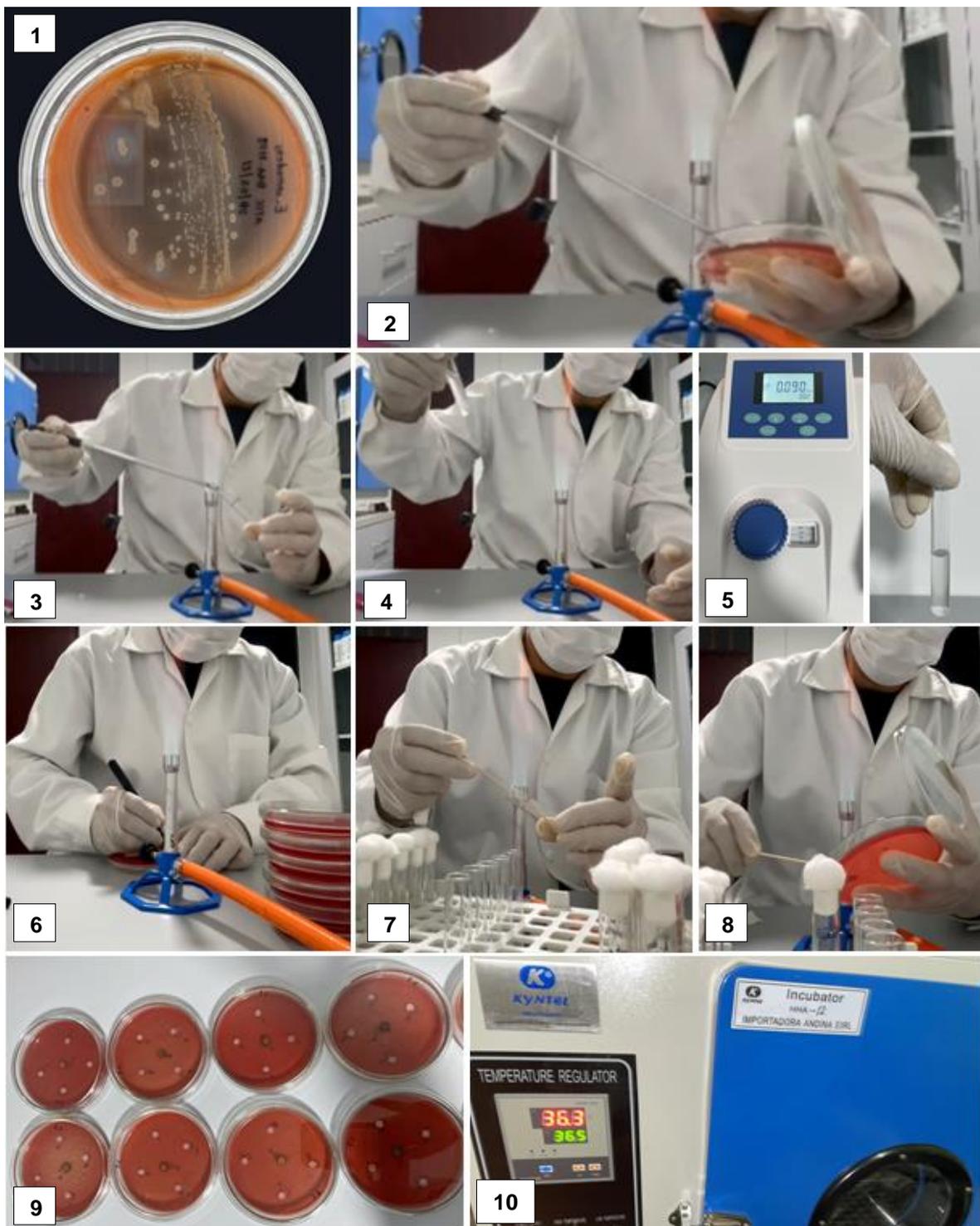
1	Pesando caldo nutritivo.	6	Hidratación de agar Mueller-Hinton.
2	Caldo nutritivo en beaker.	7	Esterilización de medios de cultivo.
3	Hidratación de caldo nutritivo.	8	Caldo nutritivo estéril.
4	Tubos con caldo nutritivo no estéril.	9	Placas servidas con agar sangre.
5	Pesado de Agar Mueller-Hinton (usado como medio base sangre).		

REACTIVACIÓN DE CEPA BACTERIANA



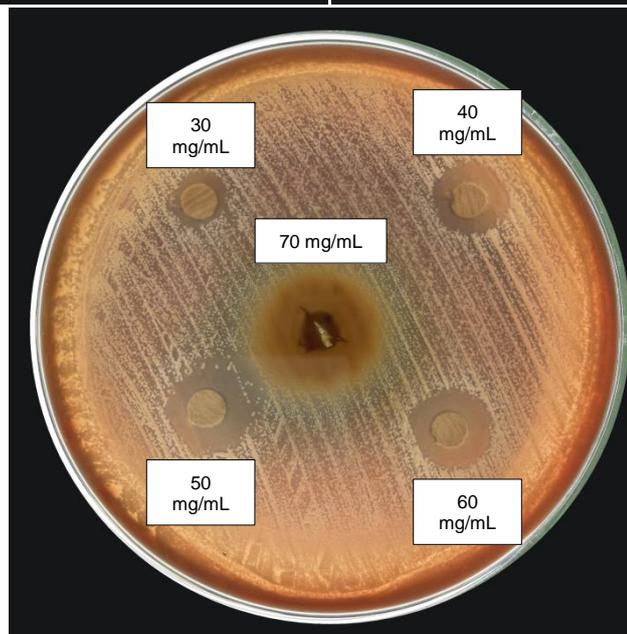
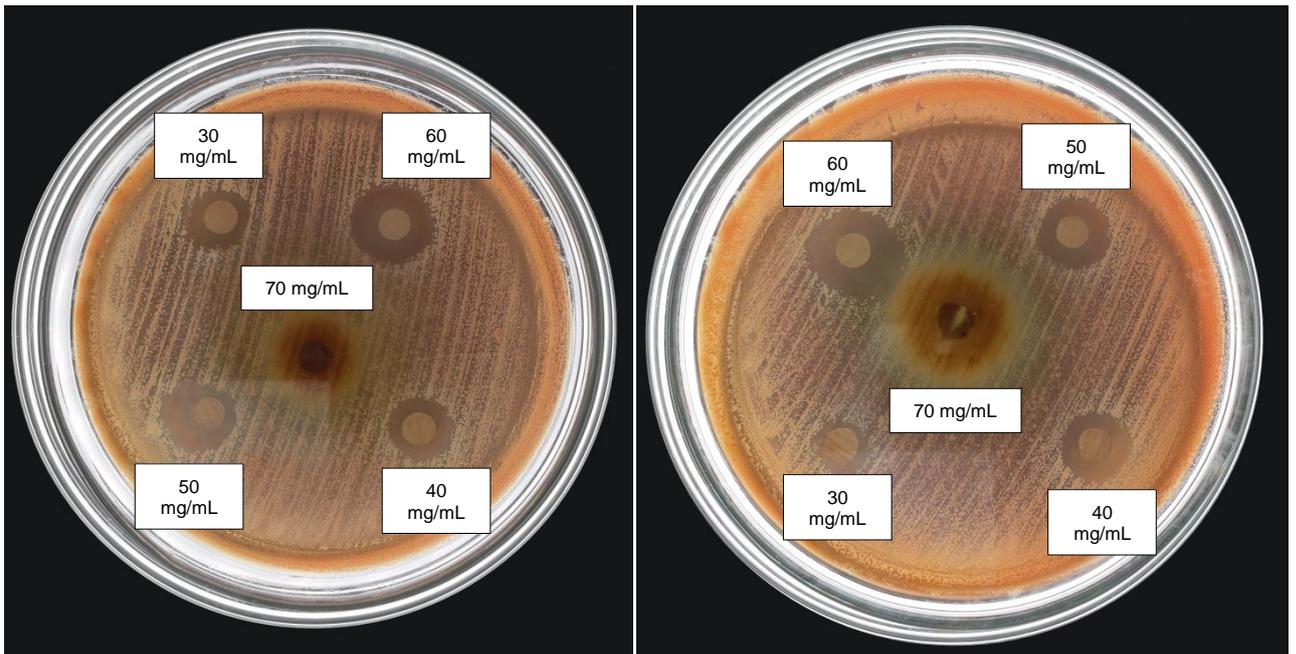
1	Cepa liofilizada de <i>E. corrodens</i> .	5	Incubación en estufa.
2	Tubos para reactivación de cepa.	6	Estufa a 36,5 °C.
3	Apertura de cepa liofilizada.	7	Cepa reactivada.
4	Hidratación de cepa liofilizada.		

EVALUACIÓN DE EFECTO ANTIBACTERIANO



1	UFC de <i>E. corrodens</i> en agar sangre.	6	Rotulación de placas con agar sangre.
2	Toma de UFC para preparación de inóculo.	7	Toma de muestra con hispo estéril.
3	Suspensión de UFC en pared de tubo.	8	Siembra por dispersión en superficie.
4	Mezcla de suspensión bacteriana.	9	Placas con agar sangre e inoculadas.
5	Estandarización del inóculo en espectrofotómetro.	10	Incubación a 36,5 °C.

LECTURA DE RESULTADOS



Halos de inhibición formados.



Declaratoria de Autenticidad del Asesor

Yo, **Carmen Teresa Ibáñez Sevilla**, docente de la Facultad de Ciencias de la Salud y Escuela Profesional de Estomatología de la Universidad César Vallejo Sede Piura, asesora de la Tesis titulada: **“Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de Heterotheca Inuloides Cass (Árnica) sobre Eikenella corrodens ATCC BAA-1152”**, de los autores: **Cornejo Recoba Angel José y Pinto Benel Hania Alexsandra**; constato que la investigación tiene un índice de similitud de **20%** verificable en el reporte de originalidad del programa Turnitin, el cual ha sido realizado sin filtros, ni exclusiones.

He revisado dicho reporte y concluyo que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad César Vallejo.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada, por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

Piura, 26 de setiembre 2021.

Apellidos y Nombres del Asesor: Ibáñez Sevilla Carmen Teresa	
DNI: 18212665	 Firma
ORCID: 0000-0002-5551-1428	