



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**  
**SEDE CUENCA**  
**CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA**

“DETERMINACIÓN *IN VITRO* DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE  
ESENCIAL DE ISHPINGO (*Ocotea quixos*) Y HIERBA LUISA (*Cympobogon citratus*) SOBRE  
CEPAS DE “*Escherichia coli*”, “*Proteus mirabilis*” y “*Streptococcus spp*” CAUSANTES DE  
ENFERMEDAD PERIODONTAL EN CANINOS”

Trabajo de titulación previo a la obtención del  
título de Médica Veterinaria

AUTORA: JULISSA CAROLINA BACUILIMA BRITO

TUTORA: DRA. MÓNICA JUDITH ESPADERO BERMEO, M.SC.

Cuenca - Ecuador

2023

**CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE  
TITULACIÓN**

Yo, Julissa Carolina Bacuilima Brito con documento de identificación N° 0105979751, manifiesto que:

Soy la autora y responsable del presente trabajo; y, autorizo a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Cuenca, 27 de junio del 2023.

Atentamente,



---

Julissa Carolina Bacuilima Brito

0105979751

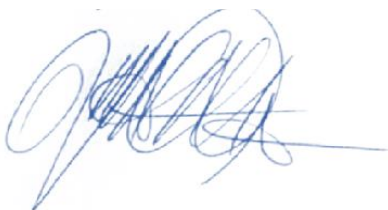
**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE  
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Yo, Julissa Carolina Bacuilima Brito con documento de identificación N° 0105979751, expreso mi voluntad y por medio del presente documento cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autora del Trabajo experimental: “Determinación *in vitro* del efecto antimicrobiano del aceite esencial de Ishpingo (*Ocotea quixos*) y Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) sobre cepas de “*Escherichia coli*”, “*Proteus mirabilis*” y “*Streptococcus spp*” causantes de enfermedad periodontal en caninos”, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Médica Veterinaria, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribo este documento en el momento que hago la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 27 de junio del 2023.

Atentamente,



---

Julissa Carolina Bacuilima Brito

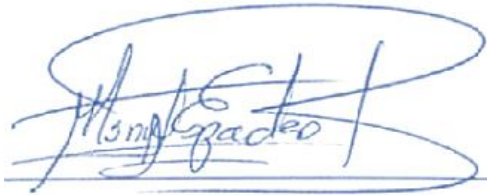
0105979751

## CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Mónica Judith Espadero Bermeo con documento de identificación N° 0103645412, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: “DETERMINACIÓN *IN VITRO* DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE ISHPINGO (*Ocotea quixos*) Y HIERBA LUISA (*Cymbopogon citratus*) SOBRE CEPAS DE “*Escherichia coli*”, “*Proteus mirabilis*” y “*Streptococcus spp*” CAUSANTES DE ENFERMEDAD PERIODONTAL EN CANINOS”, realizado por Julissa Carolina Bacuilima Brito con documento de identificación N° 0105979751, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 27 de junio del 2023.

Atentamente,



---

Dra. Mónica Judith Espadero Bermeo, M.Sc.

0103645412

## **DEDICATORIA**

Dedico el presente trabajo a mis padres que han sido mi pilar y ejemplo de vida, sobre todo por su amor y apoyo

A mis hermanos Lilian, Vinicio, Daysi que han sido mi guía y apoyo a lo largo de mi vida, a mis docentes por haber sido fundamentales en mi formación académica.

## **AGRADECIMIENTO**

A mi mamá Rosario Isabel Brito por ser mi amiga incondicional y guiarme con sus sabios consejos.

A mi padre Jaime Patricio Bacuilima por ser un apoyo y un motor para seguir adelante con mis sueños.

A mis hermanos Lilo, Ten con Cariño y Gatito por ser el apoyo en todos mis años de vida, por ser mi ejemplo a seguir y tener claro que cada meta merece un esfuerzo.

A mi amiga Cristina que la aprecio mucho, por ser mi confidente y ser mi amiga.

A mis mascotas por ser mis compañeros y pacientes, y enseñarme lo fuertes y resilientes que son los animales, y recordarme cada día la elección de mi profesión.

## **ABREVIATURAS**

ADEVA: Análisis de varianza

AE: Aceite esencial

AEHL: Aceite esencial de hierba luisa

AEI: Aceite esencial de ishpingo

DMSO: Dimetil sulfóxido

ISO: Organización Internacional de Estandarización

MHA: Medicina Homeopática Alternativa

MNT: Medicina Natural Tradicional

## ÍNDICE

<b>ÍNDICE</b> .....	8
<b>FIGURAS</b> .....	11
<b>TABLAS</b> .....	12
<b>RESUMEN</b> .....	15
<b>ABSTRACT</b> .....	17
1. INTRODUCCIÓN.....	19
1.1 Problema: .....	20
1.2 Delimitación .....	20
1.2.1 Espacial .....	20
1.2.2 Temporal.....	21
1.2.3 Académica.....	21
1.3 Explicación del problema .....	21
1.4 Objetivos.....	22
1.4.1 Objetivo general .....	22
1.4.2 Objetivos específicos.....	22
1.5 Hipótesis.....	23
1.5.1 Hipótesis alternativa.....	23
1.5.2 Hipótesis nula .....	23
1.6 Fundamentación teórica .....	24
2. REVISIÓN Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL .....	25
2.1 Enfermedad periodontal .....	25
2.1.1 Patogenia de la enfermedad periodontal .....	26
2.1.2 Etapas de la enfermedad periodontal .....	27
2.2 Biofilm.....	28
2.2.1 Importancia del biofilm y la enfermedad periodontal en caninos .....	29
2.3 Bacterias causantes de la enfermedad periodontal .....	29
2.3.1 <i>Escherichia coli</i> generalidades.....	29
2.3.2 Características de la <i>Escherichia coli</i> .....	29
2.3.3 Patogenicidad de la <i>Escherichia coli</i> .....	30



2.3.4	<i>Proteus mirabilis</i> generalidades .....	30
2.3.5	Importancia epidemiológica de <i>Proteus mirabilis</i> .....	31
2.3.6	Patogenicidad de <i>Proteus mirabilis</i> .....	31
2.3.7	<i>Streptococcus</i> spp. Generalidades.....	32
2.3.8	Patogenicidad de la familia <i>Streptococcus</i> spp. ....	33
2.3.9	<i>Streptococcus canis</i> .....	33
2.3.10	Bacterias enterogénicas y su relación con la enfermedad periodontal.....	33
2.4	Aceites esenciales.....	34
2.4.1	Composición química.....	34
2.4.2	Localización de los aceites esenciales.....	34
2.4.3	Funciones de los aceites esenciales en las plantas .....	34
2.4.4	Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales .....	35
2.4.5	Mecanismo de acción de los aceites esenciales.....	35
2.5	Ishpingo ( <i>Ocotea quixos</i> ).....	35
2.5.1.	Información taxonómica del Ishpingo ( <i>Ocotea quixos</i> ) .....	35
2.5.2.	Generalidades del aceite esencial de Ishpingo ( <i>Ocotea quixos</i> ).....	37
2.5.3.	Acción antimicrobiana del aceite de Ishpingo ( <i>Ocotea quixos</i> ) .....	37
2.5.4	Acción farmacológica del aceite esencial de Ishpingo ( <i>Ocotea quixos</i> ) .....	37
2.6	Hierba luisa ( <i>Cymbopogon citratus</i> ) .....	38
2.6.1	Información taxonómica de Hierba luisa ( <i>Cymbopogon citratus</i> ).....	38
2.6.2	Generalidades del Aceite de Hierba luisa ( <i>Cymbopogon citratus</i> ) .....	40
2.6.3	Acción farmacológica y espectro antimicrobiano .....	40
2.7	Pruebas bioquímicas.....	42
2.7.1	Aislamiento e identificación de <i>Escherichia coli</i> : .....	43
2.7.2	Identificación de <i>E.coli</i> por pruebas bioquímicas .....	43
2.8	Aislamiento de <i>Proteus mirabilis</i> .....	43
2.8.1	Identificación de <i>Proteus mirabilis</i> .....	44
2.9	Aislamiento de <i>Streptococcus</i> spp .....	44
2.9.1	Pruebas para identificación de <i>Streptococcus</i> spp.....	44
2.10	Pruebas de sensibilidad o antibiogramas .....	45

2.11	Resumen del estado del arte del estudio del problema.....	46
3.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	46
3.1	Diseño .....	46
3.2	Población y muestra.....	47
3.3	Estadística .....	48
3.4	Recolección de muestras .....	48
3.5	Procesamiento de las muestras .....	48
3.6	Identificación de bacterias obtenidas de las muestras .....	49
3.7	Determinación de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales mediante pruebas de sensibilidad por discos. ....	49
3.7.1	Estandarización del inóculo.....	49
3.7.2	Método de suspensión directa de colonias.....	50
3.7.3	Preparación de aceite esencial a concentraciones de 3,125%, 6,25%, 12,5% y 25%.....	50
3.7.4	Preparación para la inoculación de la placa .....	51
3.7.5	Inoculación de la placa .....	51
3.7.6	Método de caja petri invertida.....	51
3.8	Operalización de variables.....	53
3.8.1	Variable dependiente: Concentraciones de los aceites esenciales y bacterias identificadas .....	53
3.8.2	Variable independiente: acción antimicrobiana de los aceites esenciales de Ishpingo ( <i>Ocotea quixos</i> ) y Hierba Luisa ( <i>Cymbopogon citratus</i> ). ....	54
3.9	Consideraciones éticas .....	55
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	56
4.1	Recolección y procesamiento de muestras.....	56
4.2	Identificación de bacterias .....	58
4.3	Determinación de la actividad antimicrobiana .....	61
4.3.1	Métodos estadísticos aplicados para la determinación <i>in vitro</i> de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de Ishpingo ( <i>Ocotea quixos</i> ) y Hierba luisa ( <i>Cymbopogon citratus</i> ).....	70
5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	79
5.1	Conclusiones.....	79
5.2	Recomendaciones.....	79
6.	BIBLIOGRAFÍA.....	81

## FIGURAS

<i>Figura 1 . Ishpingo.....</i>	36
<i>Figura 2. Hierba luisa .....</i>	39
<i>Figura 3. Caninos participantes .....</i>	57
<i>Figura 4. Escherichia coli en caninos.....</i>	59
<i>Figura 5. Streptococcus spp. en caninos.....</i>	60
<i>Figura 6. Ishpingo frente a hierba luisa frente a la Escherichia coli .....</i>	68
<i>Figura 7. Ishpingo y hierba luisa frente a streptococcus spp.....</i>	69
<i>Figura 8. A.E. Ocotea quixos contra Escherichia.coli .....</i>	74
<i>Figura 9. A.E. Ocotea quixos contra Streptococcus spp .....</i>	75
<i>Figura 10. A.E. Cymbopogon citratus contra Escherichia.coli.....</i>	76
<i>Figura 11. A.E. Cymbopogon citratus contra Streptococcus spp.....</i>	78

**TABLAS**

## Tabla 1

enfermedad periodontal en caninos .....25

## Tabla 2

etapas de la enfermedad periodontal .....28

## Tabla 3

Clasificación de especies de Streptococcus spp. de importancia zoonóticas .....32

## Tabla 4

Taxonomía del ishpingo .....36

## Tabla 5

taxonomía de la hierba luisa .....39

## Tabla 6

Variable dependiente .....54

## Tabla 7

variable independiente .....54

## Tabla 8

Caninos participantes distribuidos por edad y sexo .....56

## Tabla 9

Escherichia coli en caninos de acuerdo a la edad y sexo .....58

## Tabla 10

Streptococcus spp en caninos de acuerdo a la edad y sexo .....60

## Tabla 11

escala duraffourd .....61

## Tabla 12

Diámetro en milímetros de halos de inhibición alcanzados por el A. E. Ocotea quixos (Ishpingo) frente a *Escherichia coli*. .....62

## Tabla 13

Diámetro en milímetros de halos de inhibición alcanzados por el A. E. Ocotea quixos (Ishpingo) frente a *Streptococcus spp*. .....64

## Tabla 14

Diámetro en milímetros de halos de inhibición alcanzados por el A. E. *Cymbopogon citratus* (Hierba luisa) frente a *E.scherichia coli*. .....65

## Tabla 15

Diámetro en milímetros de halos de inhibición alcanzados por el A. E. Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) frente a *Streptococcus spp*. .....66

## Tabla 16

Promedio del porcentaje del efecto de inhibición del A. E. Ocotea quixos (Ishpingo) .....67

## Tabla 17

Promedio del porcentaje del efecto de inhibición del A. E. Ocotea quixos (Ishpingo) y *Cymbopogon citratus* (Hierba luisa) frente al *Streptococcus spp*. .....68

## Tabla 18

DCA par A.E. de Ocotea quixos contra *Escherichia.coli*. .....70

## Tabla 19

DCA par A.E. de Ocotea quixos contra Escherichia.coli.....71

## Tabla 20

DCA par A.E. de Ocotea quixos contra Escherichia.coli.....71

## Tabla 21

DCA par A. E. de Cymbopogon citratus contra Streptococcus spp.....72

## Tabla 22

A.E. Ocotea quixos contra Escherichia.coli .....73

## Tabla 23

A.E. Ocotea quixos contra Streptococcus spp.....75

## Tabla 24

A.E. Cymbopogon citratus contra Escherichia.coli .....76

## Tabla 25

A.E. Cymbopogon citratus contra Streptococcus spp. ....77

## RESUMEN

El presente trabajo de titulación tiene como objetivo determinar *in vitro* el efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de Ishpingo (*Ocotea quixos*) y Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) sobre cepas de “*Escherichia coli*”, “*Proteus mirabilis*” y “*Streptococcus spp*” causantes de enfermedad periodontal en caninos de la Ciudad de Cuenca.

A través de la presente, se pretende ampliar los conocimientos sobre el uso de aceites esenciales en el campo de la enfermedad periodontal en caninos. Debido al desconocimiento por parte de los propietarios, de las consecuencias relacionadas con el bienestar de sus mascotas.

El trabajo se realizó mediante la recolección de muestras en 140 caninos con enfermedad periodontal mediante hisopado bucal para la obtención de bacterias predominantes, siendo la bacteria *Proteus mirabilis* inexistente con respecto a la población estudiada.

Se aislaron e identificaron las bacterias restantes y se determinó *in vitro* el efecto antimicrobiano de los aceites esenciales mediante la utilización de pruebas de sensibilidad por discos, comprobando su efectividad.

Posteriormente, se realizaron tres antibiogramas con los aceites a cuatro niveles de concentración distintas: 25%, 12.50%, 6.25% y 3.12%; los mismos cuya efectividad fue comprada mediante una medición en mm de los halos de inhibición frente a un control positivo o antibiótico Sulfametoxazol trimetoprim.

A través, del Método DCA y ADEVA nos dio como resultado el CV: 5.96%, 2.31%, 5.77 % y 0.89%; lo que nos indica la confiabilidad del experimento, ya que los experimentos en condiciones

controladas tienen un rango de confiabilidad del 10% al 12%. Es decir, el presente experimento está dentro del rango establecido.

Finalmente, mediante el uso del Método DUNCAN, se probó la significancia entre los tratamientos para cada concentración y bacteria a un nivel de significancia del 5%. Obteniendo como resultado A.E. *Ocotea quixos* contra *Streptococcus spp* y A.E. *Cymbopogon citratus* contra *Streptococcus spp*; significativa a todos los niveles de tratamientos.

**Palabras Clave:** Caninos, enfermedad periodontal, bacterias, pruebas de sensibilidad, aceites esenciales.



## ABSTRACT

The objective of this titration work is to determine in vitro the antimicrobial effect of the essential oils of Ishpingo (*Ocotea quixos*) and Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) on strains of "Escherichia coli", "Proteus mirabilis" and "Streptococcus spp" that cause periodontal disease in canines of the City of Cuenca.

Through the present, it is intended to expand knowledge about the use of essential oils in the field of periodontal disease in canines. Due to the ignorance on the part of the owners, of the consequences related to the well-being of their pets.

The work was carried out by collecting samples from 140 canines with periodontal disease by means of buccal swabs to obtain the predominant bacteria, the *Proteus mirabilis* bacterium being non-existent with respect to the population studied.

The remaining bacteria were isolated and identified and the antimicrobial effect of the essential oils was determined in vitro by using disc sensitivity tests, verifying their effectiveness. Subsequently, three antibiograms were performed with the oils at four different concentration levels: 25%, 12.50%, 6.25% and 3.12%; the same whose effectiveness was compared by measuring the inhibition halos in mm against a positive control or antibiotic sulfamethoxazole trimethoprim.

Through the DCA Method and ADEVA, the CV resulted: 5.96%, 2.31%, 5.77% and 0.89%; which indicates the reliability of the experiment, since experiments under controlled conditions have a reliability range of 10% to 12%. That is, our experiment is within the established range.

Finally, using the DUNCAN Method, the significance between the treatments for each concentration and bacteria was tested at a significance level of 5%. Obtaining as a result A.E. Ocotea quixos against Streptococcus spp and A.E. Cymbopogon citratus against Streptococcus spp; significant at all treatment levels.

**Keywords:** Canines, periodontal disease, bacteria, sensitivity tests, essential oils.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades periodontales, son las más comunes que se encuentran en la práctica en especies menores. Estas patologías producen un dolor característico, así como también infecciones a nivel local y sistémico. Las enfermedades dentales sub-tratadas o que no son tratadas con la debida importancia representan un riesgo para el bienestar animal. La odontología veterinaria es un área poco investigada ya que por parte de los propietarios existe poca importancia con respecto a la salud bucal de los caninos. (Brook et al, 2019) (Brook A, Niemiec DAVDC, DEVDC, FAVD, & Jerzy Gawor DAVDC, 2019) (párr. 1).

La enfermedad periodontal es la causa más habitual de enfermedad dental en los caninos; afecta a muchos de ellos a partir de los 2 años de edad. Se puede prevenir con un cuidado rutinario de los dientes. Se puede tratar, pero si no se hace, puede provocar la pérdida de dientes e infecciones más graves que afecten a órganos vitales como el hígado, el riñón o el corazón.

El estudio de los aceites esenciales y su uso como antimicrobianos en la industria farmacéutica se ha convertido en una de las áreas de investigación y desarrollo más importantes en muchos países, ya que presenta alrededor de 300 compuestos químicos como: alcoholes, ácidos, ésteres, fenoles, terpenos, aldehídos, que solos o combinados brindan actividad biológica (antibacteriano, antifúngico) frente a microorganismos patógenos.

Los antibióticos constituyen la primera elección para la terapia de infecciones de origen bacteriano, mejorando los resultados clínicos y reduciendo la morbilidad y mortalidad causadas por este tipo de infecciones. Sin embargo, su uso indiscriminado y poco controlado también puede

promover la aparición de cepas bacterianas resistentes e incluso multirresistentes, siendo este un problema de salud pública de repercusión mundial. Es por esto que se pretende ahondar en los efectos antimicrobianos de los aceites de Ishpingo (*Ocotea quixos*) y Hierba Luisa (*Cymbopògon citratus*).

### 1.1 Problema:

En la ciudad de Cuenca, las medidas de prevención, dirigidas al control de la placa y sarro dental, y por ende los tratamientos dentales (medidas necesarias para la óptima conservación de la cavidad bucal) no son aplicadas regularmente en las mascotas y no existen estudios previos realizados con respecto a este tema.

En las enfermedades periodontales representan la patología clínica más frecuente en los caninos. El nulo conocimiento e importancia que se le da a estas enfermedades conlleva a los propietarios a descuidar a sus mascotas, debido a esto cerca del 95% de los caninos por encima de 2 años y más del 80% por encima de los 4 años presentan alguna alteración bucal en los cuales se presenta la enfermedad periodontal como principal causa de la pérdida de piezas dentales (Esquivel & Reyes, 2014).

### 1.2 Delimitación

#### 1.2.1 Espacial

La investigación se realizó en la provincia del Azuay Cantón Cuenca-Ecuador, las muestras fueron obtenidas en las diversas clínicas de la Ciudad de Cuenca, con unas coordenadas referenciales de: 2°54'40" S 78°58'27" W (Avenza Maps, 2023) las muestras fueron corridas y analizadas en los laboratorios de Ciencia de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana con

unas coordenadas referenciales de: 2°53'11"S 78°59'23"O / -2.886382, -78.989613 (Moovitapp, 2021).

### 1.2.2 Temporal

El tiempo que se invirtió para realizar esta investigación experimental fue de 400 horas.

### 1.2.3 Académica

La presente investigación académica se encuentra en el Área de Clínica Menor y servirá para aportar tratamientos opcionales para la enfermedad Periodontal en Caninos.

## 1.3 Explicación del problema

Las altas frecuencias de enfermedades periodontales en caninos han permitido conocer el rol de la placa dental y de otros factores asociados, como edad, tamaño del animal, biotipo cefálico, dieta y comportamiento masticatorio, los dientes más afectados se encuentran en la región maxilar y los premolares. Se encontró una asociación positiva entre edad con la frecuencia y severidad de la enfermedad periodontal (Maetahara R, 2010).

Existen alrededor de 50 especies bacterianas son causantes de enfermedades periodontales, encontrándose con frecuencia bacterias anaerobias estrictas, según estudios realizados por (Hurtado CA, 2016) han aislado especies de bacterias no comunes de la familia *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonaceae*, *Acinetobacter* y *Staphylococcus*; así como *Streptococcus* beta hemolítico de bolsas periodontales; la terapia aplicada para el tratamiento de estas afecciones bucales se utilizan los antibióticos, el desarrollo de cultivos y pruebas de sensibilidad son raramente realizados en pacientes que tienen una infección que se extiende en la cavidad oral, para la selección de un antibiótico apropiado debe basarse en información existente

sobre la sensibilidad de los patógenos orales conocidos. (Vega *et al.*, 2014) el desconocimiento ante los riesgos y consecuencias por parte de la población en general, dieron rienda suelta al uso indiscriminado de antibióticos, pero investigaciones fitoquímicas han logrado determinar que la presencia de compuestos químicos presentes en los aceites esenciales o extractos obtenidos de las plantas poseen actividad antimicrobiana.

En un estudio realizado en la provincia del Oro evaluaron la composición química y actividad biológica del aceite de *Cymbopogon citratus* (Hierba luisa), la cual indica que el aceite contiene una gran cantidad de metabolitos secundarios volátiles y resaltan su gran actividad antibacteriana y su uso como bactericida. El Ocotea quixos (Isphingo) posee fenoles, flavonoides, cumarinas, terpenos que le hace responsable de la actividad antimicrobiana (Logroño, 2021).

## 1.4 Objetivos

### 1.4.1 Objetivo general

Determinar *in vitro* el efecto antimicrobiano del aceite esencial de Isphingo (*Ocotea quixos*) y Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) sobre cepas de “*Escherichia coli*”, “*Proteus mirabilis*” y “*Streptococcus spp*” causantes de enfermedad periodontal en caninos de la Ciudad de Cuenca.

### 1.4.2 Objetivos específicos

- Recolectar muestras en las distintas Clínicas Veterinarias de la Ciudad de Cuenca, de caninos con enfermedad periodontal mediante hisopado, para la obtención de bacterias predominantes.

- Aislar las bacterias “*Escherichia coli*”, “*Proteus mirabilis*” y “*Streptococcus spp*” encontradas en caninos con enfermedad periodontal, mediante técnica de siembra en placa o estriado para su análisis.
- Identificar las bacterias “*Escherichia coli*”, “*Proteus mirabilis*” y “*Streptococcus spp*” presentes en las muestras de caninos con enfermedad periodontal mediante pruebas bioquímicas para su evaluación.
- Determinar *in vitro* el efecto antimicrobiano del aceite esencial de Ishpingo (*Ocotea quixos*) y Hierba luisa (*Cymbopogon Citratus*) sobre cepas de “*Escherichia coli*”, “*Proteus mirabilis*” y “*Streptococcus spp*” causantes de enfermedad periodontal en caninos mediante la utilización de pruebas de sensibilidad por discos, comprobando su efectividad.

## 1.5 Hipótesis

### 1.5.1 Hipótesis alternativa

Existe efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de Ishpingo (*Ocotea quixos*) y Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) sobre cepas de “*Escherichia coli*”, “*Proteus mirabilis*” y “*Streptococcus spp*” causantes de enfermedad periodontal en caninos.

### 1.5.2 Hipótesis nula

No existe efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de Ishpingo (*Ocotea quixos*) y Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) sobre cepas de “*Escherichia coli*”, “*Proteus mirabilis*” y “*Streptococcus spp*” causantes de enfermedad periodontal en caninos.

## 1.6 Fundamentación teórica

En el siguiente trabajo inició con un registro de la presencia de enfermedad periodontal en los caninos en el cantón Cuenca-Ecuador y sus alrededores con el fin de identificar las bacterias causantes de la enfermedad periodontal y poder determinar el efecto antimicrobiano del aceite esencial de Ishpingo (*Ocotea quixos*) y Hierba luisa (*Cymbopogon Citratus*).



## 2. REVISIÓN Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL

### 2.1 Enfermedad periodontal

Pieri ( como se citó de Gregorio, 2021) afirma. “La Enfermedad Periodontal es un proceso infeccioso caracterizado por la destrucción de tejido conectivo con la pérdida subsiguiente de inserción periodontal y reabsorción de hueso alveolar” (p. 16). Se presentan por lo general, debido a una mala o nula higiene bucodental.

Los restos de alimento en las estructuras bucales desencadenan el acúmulo de placa bacteriana, que posteriormente formará sarro, produciendo un cuadro de gingivas inflamadas, de esta manera, al proliferar las bacterias patógenas se desarrolla la enfermedad periodontal o periodontitis En cuanto a los hábitos, cabe destacar el tipo de alimentación. A este respecto se observa que una dieta blanda generalmente favorece la acumulación de residuos de comida dentro y en los alrededores de los dientes. Otros hábitos son los comporta-mentales como masticar huesos, piedras o madera ya que estos pueden causar daño en la gingiva y favorecer el desarrollo de infección (Predari, 2016). La falta de un diagnóstico temprano tiene consecuencias locales y que pueden derivar en enfermedades sistémicas (Pérez, 2020) como se detalla en la (tabla 1).

Tabla 1  
Consecuencias de las alteraciones periodontales.

Consecuencia locales	Enfermedades sistémicas
Fracturas patológicas	Osteoporosis
Problemas oculares	Renales- Hepáticas
Fistulas oronasaes	Enfermedades pulmonares
Osteomielitis	Artritis
Lesiones perio y endodentales clase II	Enfectos adversos en la preñez.
Aumento de la incidencia de cáncer oral	Enfermedades autoinmunes

*Fuente:* Autora

### 2.1.1 Patogenia de la enfermedad periodontal

Hennet y Harvery establecen que “En encías clínicamente sanas, la placa bacteriana, se presenta en un inicio por la adhesión de bacterias aerobias y anaerobias facultativas a la película, tardando 24 horas en estabilizarse”, además, Van describe que “La mayoría de esas bacterias son Gram positivas, inmóviles, cocáceas y no patógenas (*Streptococcus sanguis* y *Actinomyces viscosus*), quienes además son las productoras de polisacáridos” (como se citó en Toriggia, 2014) (p. 34- 35). A medida que bacterias aerobias se multiplican y acumulan, consumen más oxígeno, cambiando la gradiente de oxígeno en las capas más profundas del biofilm. Al no estar este elemento presente, permite el crecimiento de anaerobios estrictos.

La afección comienza cuando las bacterias se combinan con el biofilm de glucoproteínas salivales y detritos alimenticios, formando placa. Ésta es una sustancia blanda, resistente, que se adhiere firmemente al diente. Los minerales en la saliva serán incorporados dentro de la placa, dando como resultado sarro o cálculo (Acheverreaga & Burgueño, 2012) (párr. 14).

Las bacterias aerobias Gram-positivas son las primeras en adherirse al biofilm. A medida que la placa se hace más gruesa, madura y se extiende a través del surco gingival. El medio se hace más apropiado para el crecimiento de microorganismos anaeróbios estrictos causantes de la enfermedad periodontal. De esta manera, la constitución bacteriana cambia a anaerobios, Gram negativos, bacilos, espiroquetas, móviles y patógenos. El efecto patológico, local e inicial, es la inflamación de los tejidos gingivales denominada gingivitis, la cual es evidenciada clínicamente por hiperemia, edema, ulceración o sangrado espontáneo de la encía, puede progresar a periodontitis, que es la infección de los componentes del periodonto.

La transición de gingivitis a periodontitis es el resultado de cambios en el potencial patológico de la placa dental, una inadecuada respuesta del huésped a la infección gingival, y varios factores de riesgo. A medida que la periodontitis progresa, la destrucción inflamatoria de la parte coronaria del ligamento periodontal permite la migración apical del epitelio de inserción y la formación de una bolsa periodontal patológica. La evolución de la enfermedad ocurre en forma de episodios, no es un proceso continuo, donde a períodos agudos de actividad le siguen períodos de relativa inactividad. Sin embargo, la completa curación no ocurre durante esta fase de quiescencia, debido a que la placa subgingival permanece sobre la superficie de la raíz del diente y la inflamación persiste en el tejido conectivo.

### 2.1.2 Etapas de la enfermedad periodontal

Existen varios índices que se pueden emplear para cuantificar la extensión de la inflamación y la enfermedad, índice de placa, gingival y de cálculo, en la (Tabla 2) se da a conocer las diferentes etapas.

Tabla 2  
Etapas de la enfermedad periodontal

Etapa	Descripción
1. Gingivitis	El margen de la encía adherida está inflamado Placa que cubre los dientes Se puede revertir
3. Periodontitis temprana:	Encía adherida inflamada Presencia de dolor y el olor perceptible Ligera recesión gingival Poca evidencia de pérdida ósea Halitosis intensa Se puede revertir
4. Periodontitis moderada:	Encías rojo cereza Encías sangrantes que se atrofian por infección y sarro Halitosis intensa 25% y 50% de pérdida de apoyo del periodonto Mayormente no es reversible.
5. Periodontitis avanzada:	Infección bacteriana crónica Destrucción de encía, diente y hueso Pérdida de más del 50% del tejido periodontal de soporte Propagación de bacterias a través del torrente sanguíneo Rotura de raíces de los dientes, pérdida ósea y pérdida de dientes

*Fuente:* (Gregorio, 2021)

## 2.2 Biofilm

Phillips (como se citó en Rodríguez, 2015) “El biofilm es una comunidad heterogénea dinámica y compleja constituida por bacterias y hongos” (párr. 3), las bacterias forman microcolonias que tienen adherencia al cabo de 2 a 4 horas y en una media de 16 horas desarrollan el exopolisacárido mostrando resistencia a tratamientos con antibióticos, antisépticos, fungicidas, etc (párr. 5). Costerton (como se citó en Rodríguez, 2015).

### 2.2.1 Importancia del biofilm y la enfermedad periodontal en caninos

Las infecciones por biofilm se pueden presentar como cuadros recurrentes o crónicos, los organismos que hacen parte del mismo presentan un nivel muy bajo de inhibición a antibióticos o antifúngicos e inclusive a los mecanismos de defensa propios del huésped, se ha demostrado la relación de biofilm a procesos infecciosos como enfermedad periodontal, problemas dérmicos, neumonía, mastitis, enfermedades de vías urinarias y septicemias (Rodríguez, 2015).

En el área de odontología veterinaria, el concepto de biofilm desafortunadamente no tiene la misma relevancia que en los procesos infecciosos de humanos, de esta manera se hace necesario tomar en cuenta la importancia del biofilm para indicar un tratamiento que considere que el proceso infeccioso puede estar direccionado por un consorcio bacteriano, fúngico o mixto.

## 2.3 Bacterias causantes de la enfermedad periodontal

### 2.3.1 *Escherichia coli* generalidades

(Ben venutto, 2017) afirma que:

*E. coli* se caracteriza por poseer bacilos Gram negativos, no esporulante, producción de indol a partir de triptófano, no utilización de citrato como fuente de carbono y no producción de acetoína. Además, fermenta la glucosa y la lactosa con producción de gas. (p. 14).

### 2.3.2 Características de la *Escherichia coli*

La *E. coli* consta de tres elementos: membrana interna, membrana externa y de un espacio entre las dos membranas constituida por péptido-glucano. Esta última estructura confiere a la bacteria su estructura y rigidez, y le permite sobrevivir a presiones osmóticas respectivamente altas (Canet, 2016) (párr. 4).

### 2.3.3 Patogenicidad de la *Escherichia coli*

Se lleva a cabo mediante la función de algunos antígenos superficiales y de las toxinas que generan, los mecanismos de patogenicidad de la bacteria tales como las fimbrias actúan aportando la adherencia, los Ags O y K presentan propiedades que inhiben la fagocitosis por parte del sistema inmune (Canet, 2016) (párr. 12).

Manzullo como se citó (Tadich, 2023) la elevada virulencia y poder de replicación de la bacteria se debe a múltiples factores relacionados con su estructura que hace resistentesias con los elementos que conforman la inmunidad específica (complemento, fagocitosis, lisosimas, etc.) y sobre todo la capacidad de utilizar el hierro sérico para sobrevivir y proliferar. El producto resultante del metabolismo bacteriano tiene como consecuencia un proceso inflamatorio, acompañado de hipertermia y una hipotermia secundaria por alteraciones en los mecanismos termorreguladores, como dato de suma importancia existe invasión de órganos como: riñón, cerebro, hígado y glándula mamaria (párr. 22).

### 2.3.4 *Proteus mirabilis* generalidades

El género "*Proteus*" forma parte de la familia Enterobacteriaceae, son bacilos Gram negativos, móviles, con flagelos peritricos, aerobios y facultativos anaerobios. Tradicionalmente a este género se le ha encuadrado en la tribu *Proteae* que incluye también a los géneros *Providencia* y *Morganella*. Todos ellos se caracterizan por su capacidad para desaminar la fenilalanina transformándola en ácido fenilpirúvico debido a la producción de fenilalanina desaminasa, hidrolizar la tirosina, desdoblar en casi todos los casos la urea y ser resistentes a la colistina (Cantón, 2006).

### 2.3.5 Importancia epidemiológica de *Proteus mirabilis*

El género *Proteus* está ampliamente difundido en la naturaleza y forma parte de la microbiota intestinal. Se ha aislado en muestras ambientales, incluyendo tierras, abonos y aguas contaminadas, y en una gran variedad de muestras de animales. *Proteus myxofaciens* sólo ha sido aislado en insectos. Entre todas las especies que pertenecen a este género es sin duda *P. mirabilis* la especie más común, seguido de *P. vulgaris* (Guerrero, 2012).

### 2.3.6 Patogenicidad de *Proteus mirabilis*

Treviño *et al.* (2012) afirma que *Proteus mirabilis* es un patógeno frecuente asociado a infecciones tanto en la comunidad como en instituciones sanitarias, principalmente afectando al epitelio que recubre el tracto urinario superior y colonizando la vejiga urinaria. Las cepas salvajes de esta bacteria son sensibles a  $\beta$ -lactámicos debido a que no expresan la cefalosporinasa cromosómica AmpC (pág. 47).

Sin embargo, la producción de beta-lactamasas plasmídicas de tipo AmpC en *Proteus mirabilis* es un mecanismo de resistencia frente a cefalosporinas de espectro ampliado emergente en España y otros países europeos derivadas, mayoritariamente del grupo CMY/LAT. Las enterobacterias portadoras de AmpC plasmídica son, habitualmente, multirresistentes lo cual restringe considerablemente las opciones terapéuticas (pág. 47)

(Cantón S. M., 2006) Describe que “La patogenicidad se asocia a la presencia de fimbrias, flagelos, proteínas de membrana externa específicas, lipopolisacárido, enzimas proteolíticas, incluyendo gelatinasas y proteasas, hemolisinas y sobre todo a la producción de ureasa” (párr. 10).

### 2.3.7 *Streptococcus* spp. Generalidades

Los estreptococos son cocos Gram positivos que pertenecen a la familia Streptococcaceae. Con frecuencia se presentan en pares o cadenas, especialmente en fluidos. Muchos miembros del género de los *Streptococcus* son patógenos tanto para seres humanos como para animales. Está demostrado o se sospecha que algunas especies son zoonóticas. (The Center for Food Security & Public Health, 2015, pág. 1)

La clasificación de especies de *Streptococcus* spp. de importancia zoonóticas se detallan en la tabla

Tabla 3

*Clasificación de especies de Streptococcus spp. de importancia zoonóticas*

<i>Tipo</i>	<i>Descripción</i>
<i>S. equi subesp. zooepidemicus</i> (beta hemolítico; grupo C de Lancefield)	Patógeno oportunista que causa una serie de infecciones en varias especies.
<i>S. suis</i> (beta no hemolítico; grupos R, S y T de Lancefield)	Patógeno o comensal, en general, asociado con los cerdos. Hay 35 serotipos de <i>S. suis</i> con virulencia variable; el tipo 2 se aísla con mayor frecuencia a partir de casos clínicos en cerdos. El tipo 2 también es la cepa clínica predominante en humanos.
<i>S. iniae</i> (beta hemolítico; sin antígenos de los grupos de Lancefield)	Zoonosis recientemente reconocida del pescado. Se cree que existen cepas virulentas y comensales de <i>S. iniae</i> .
<i>S. canis</i> (beta hemolítico; grupo C de Lancefield)	Patógeno oportunista que se encuentra en perros y otras especies.

---

*Fuente:* (The Center for Food Security & Public Health, 2015) (p. 1-2).



### 2.3.8 Patogenicidad de la familia *Streptococcus* spp.

*Streptococcus* spp. con regularidad son parte de la microflora normal de animales y humanos, su número es limitado, en general, por los mecanismos de defensa inespecíficos y la competencia con otros microorganismos. Algunas especies causan enfermedades, ya sea cuando estos mecanismos fallan, o cuando se adquiere una nueva cepa virulenta.

La transmisión entre los animales y el hombre también denominada (zoonosis) no suele ser muy frecuente, porque depende del agente patógeno con el que se esté tratando mientras que otros pertenecen a distintas especies o a distinta cepa dentro de la misma especie (INSST, 2022).

### 2.3.9 *Streptococcus canis*

*S. canis* es un patógeno comensal y oportunista que se encuentra en la piel y en las mucosas de los perros y de otras especies. La transmisión de *S. canis* a los humanos pueden producirse por colonización de heridas abiertas o quemaduras, o por mordeduras de caninos (The Center for Food Security & Public Health, 2015).

### 2.3.10 Bacterias enterogénicas y su relación con la enfermedad periodontal

De acuerdo con la revisión de la literatura, las bacterias anaerobias encontradas están principalmente relacionadas con enfermedad periodontal y las enterobacterias con contaminación oro-fecal.

Al respecto Vega y Fernández reportan en su estudio que la presencia de microbiota entérica en caninos con inicios de periodontitis se relaciona con ciertas condiciones del microambiente oral que facilita el crecimiento exacerbado de patógenos oportunistas sobre todo anaerobios, dado que el ambiente facilita su desarrollo. Entre las condiciones se encuentran las higiénico-sanitarias

deficientes de los albergues, y la contaminación oro-fecal derivada de hábitos de coprofagia y el lamido frecuente de la zona anal (Citado en Vargas, 2019).

## 2.4 Aceites esenciales

Son sustancias volátiles obtenidas de diferentes plantas, que presenta una composición química muy compleja, tienen propiedad aromática. Se han obtenido un aproximado de 4000 aceites esenciales diferentes. Las especies vegetales aromáticas son las que tiene más cantidad de esencia, por lo tanto, constituyen la materia prima para su extracción (Coronado, 2019)

### 2.4.1 Composición química

Se encuentran dentro de los hidrocarburos, así mismo, de los terpenos, sesquiterpenos, diterpenos y entre los compuestos hidrogenados se encuentran los terpenoides, alcoholes, aldehídos, ésteres, compuestos fenólicos, óxidos y lactonas, compuestos nitrogenados y sulfuros (Coronado, 2019).

### 2.4.2 Localización de los aceites esenciales

Los aceites esenciales pueden ser extraídos ya sea de las hojas o tallos. Por lo tanto, su rendimiento no es mayor al 1% en peso en materia verde. Las familias de especies vegetales más nombradas que contienen alto contenido de aceites esenciales son: rutáceas, rosáceas, lamiáceas y mirtáceas (Coronado, 2019).

### 2.4.3 Funciones de los aceites esenciales en las plantas

Los aceites son desechos de los vegetales y se pueden visualizar formando emulsiones. Las plantas los vierten al exterior por sus canales excretores y estas producen un olor fuerte, pues son estos compuestos los que le dan aroma a los vegetales, este aroma es un mecanismo de defensa de

las plantas ante la presencia de depredadores (microorganismos, insectos, hongos y herbívoros), como medio de defensa de la especie vegetal (Ortega, 2018).

#### 2.4.4 Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales

Según (Ortega, 2018) mencionan tres características a las cuales los aceites esenciales atribuyen su poder antimicrobiano:

- Carácter hidrófilo, hidrófobo: se da una alteración y penetración en la estructura lipídica de la pared celular provocando desnaturalización y muerte de la célula.
- Compuestos químicos: actúan como agentes, interviniendo en la translocación de protones y la fosforilación del ATP.
- Tipo de microorganismo al que ataca: las bacterias Gram negativas poseen mayor susceptibilidad que las Gram positivas *in vitro*.

#### 2.4.5 Mecanismo de acción de los aceites esenciales

Su mecanismo de acción es de inhibiendo el crecimiento bacteriano al parecer ser la alteración del funcionamiento de la membrana, esto causa despolarización y degradación de la permeabilidad de la membrana, pérdida del contenido celular y finalmente la muerte del microorganismo (Coronado, 2019).

### 2.5 Ishpingo (*Ocotea quixos*)

#### 2.5.1. Información taxonómica del Ishpingo (*Ocotea quixos*)

Según (Omar Carrasco et. al, 2016), *Ocotea quixos* pertenece a la familia *Lauraceae*, se distribuye por Colombia y Ecuador.



*Figura 1 . Ishpingo*  
*Fuente: (Macas, 2021)*

El Ishpingo, dentro de la botánica sistemática, se encuentra clasificada de la siguiente manera:

Tabla 4

Clasificación taxonómica de *Ocotea quixos*

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Lurales
Familia	Lauraceae Juss.
Género	<i>Ocotea</i>
Especie	<i>Ocotea quixos</i> (Lam.)Korsem

*Fuente: Allemão, A. C. Sm. 2018*

### 2.5.2. Generalidades del aceite esencial de Ishpingo (*Ocotea quixos*)

El Ishpingo (*Ocotea quixos*) es una planta originaria de América del sur denominada comúnmente como canela amazónica, es una especie arbórea perenne dicotiledónea perteneciente a la familia Lauráceas, este árbol endémico de la amazonia ecuatoriana tiende a crecer en altitudes comprendidas entre los 310 y 1250 msnm, que se desarrolla específicamente en climas húmedos tropicales (Logroño, 2021).

Los árboles de Ishpingo (*Ocotea quixos*) han sido utilizados desde tiempos incaicos por las comunidades que habitan estas zonas con fines culinarios, terapéuticos y medicinales, el principal uso en el Ecuador, tanto de los cálices leñosos como de las hojas ha sido como especería para aromatizar ciertas comidas, como la colada morada y algunas preparaciones de chicha de maíz; en el campo de la medicina tradicional se lo ha utilizado en forma de infusión para atenuar dolores estomacales y en forma de tintura para dolores de piezas dentales (Logroño, 2021).

### 2.5.3. Acción antimicrobiana del aceite de Ishpingo (*Ocotea quixos*)

El aceite fue utilizado para un experimento de evaluación de actividad antimicrobiana y antifúngica, demostrando que el aceite foliar tiene una alta capacidad inhibitoria contra hongos (levaduras) y bacterias; siendo el resultado la inhibición del crecimiento de cepas de *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Streptococcus piogenes* y *Streptococcus mutans* (Logroño J. , 2021).

### 2.5.4 Acción farmacológica del aceite esencial de Ishpingo (*Ocotea quixos*)

#### 2.5.4.1 Efecto antiinflamatorio

La inflamación es una respuesta protectora, cuyo principal objetivo es librar al organismo del elemento causante del daño celular, como microbios y toxinas, y de las consecuencias de ese daño,

con la formación de células y tejidos necróticos. Sin la inflamación, las infecciones se diseminarían y las heridas nunca cicatrizarían. Por otro lado, la inflamación no curada adecuadamente es la base de las reacciones de hipersensibilidad y enfermedades crónicas, como la artritis reumatoide, la aterosclerosis y la fibrosis pulmonar (Logroño J. , 2021).

El Ecuador posee una variada flora y dentro de ella, muchas especies con reconocida actividad benéfica para la salud, dentro de estas especies se encuentra la especie *Ocotea quixos*. Los compuestos del aceite esencial del género *Ocotea* como el trans-cinamaldehído y cinamato de metilo, fueron aplicados en modelos *in vitro e in vivo* con ratones de laboratorio demostrando el efecto antiinflamatorio frente al edema que estas presentaban, sin dañar la mucosa gástrica (Logroño J. , 2021; Goulart, et al., 2022).

## 2.6 Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*)

### 2.6.1 Información taxonómica de Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*)

En cuanto a su taxonomía al inicio había mucha confusión respecto a la taxonomía de las plantas que producen los aceites de “lemon grass” de las Indias Orientales y de las Indias Occidentales. Pocas plantas de la familia poaceae presentan en sus hojas aceites esenciales, las más importantes son precisamente las del género *Cymbopogon* (Morillo , 2017, p. 19).



*Figura 2. Hierba luisa*

*Fuente:* (El Diario. ec, 2014)

Como menciona (Stapf, 1933) la hierba luisa, dentro de la botánica sistemática, se encuentra clasificada de la siguiente manera:

Tabla 5

*Clasificación taxonómica de la hierba luisa*

Reino	Plantae
Clase	Equisetopsida C. Agardh
Orden	Poales
Familia	Poaceae Barnhart
Género	<i>Cymbopogon</i> Spreng.
Especie	<i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf

*Fuente:* Stapf, 1933, Tropicos.org

### 2.6.2 Generalidades del Aceite de Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*)

El aceite esencial de hierba luisa (*C. citratus*) presenta propiedades medicinales reconocidas, también tiene participación curativa en el sistema cardiocirculatorio, asimismo utilizado con antihipertensivo se utiliza también como antiasmático, a modo que también si utiliza en bacterias *Gran negativas* y *Gram positiva*, tiene una efectividad antimicótica, etc. (Coronado, 2019).

Según estudios precisan que las propiedades terapéuticas de dicha planta en estado de aceite esencial se usen como analgésico para alguna zona del cuerpo y administración tanto vía oral o vía tópica (Coronado, 2019).

### 2.6.3 Acción farmacológica y espectro antimicrobiano

El aceite esencial actúa destruyendo la capa lipídica de la membrana de la célula bacteriana, tiene acción farmacológica sobre el sistema cardiocirculatorio, como antihipertensivo, sobre el sistema digestivo, como antiespasmódico, sobre el sistema respiratorio, como antiasmático, sobre la piel y mucosas, como antibacteriano (sobre bacterias Gram positivas como por ejemplo *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus*) y antimicótico (Castillo, 2017,p.20).

Se le atribuyen otras propiedades medicinales de forma empírica, como la de ser febrífugo, antitusivo, estomáquico, carminativo, diaforético y expectorante. Estudios clínicos realizados para precisar las propiedades terapéuticas de esta especie sugieren que el mirceno, uno de los componentes del aceite esencial posiblemente sirva como analgésico específico para partes particulares del cuerpo. Su uso se realiza tanto oral como tópicamente (Castillo, 2017, p.20).



## 2.6 Hisopos en medio de Stuart

En 1948, Moffet, Young y Stuart formularon un medio para el transporte de gonococos. Toshach y Patsula mejoraron la formulación obteniendo lo que hoy se conoce como el medio de transporte Stuart. La capacidad del medio de mantener la viabilidad de gonococos durante su transporte, dirigió las investigaciones para explorar su uso con varios especímenes. Actualmente este medio es recomendado para exudados faríngeos, vaginales y muestras de heridas.

En este medio el cloruro de calcio junto con el glicerofosfato de sodio, actúan como un buen agente amortiguador y también mantiene el equilibrio osmótico en el medio. El tioglicolato de sodio evita los cambios oxidativos y provee una atmósfera reducida. El azul de metileno es un colorante indicador del estado de óxido-reducción. El agar bacteriológico es adicionado como agente solidificante (MCD LAB, 2021, p. 1).

Este medio se puede usar para el transporte de muchos organismos fastidiosos, incluidos anaerobios, manteniendo la viabilidad del organismo sin multiplicación significativa. Crooks y Stuart sugirieron la adición de sulfato de polimixina B que facilita la recuperación de *Neisseria gonorrhoeae*. Este medio es un medio semisólido, no nutriente, definido químicamente que previene la proliferación microbiana. Debido a esto la composición del medio garantiza que los microorganismos presentes puedan sobrevivir durante un período de tiempo suficientemente largo (mdmcientifica, 2021, p. 1).

Un medio de transporte Stuart es un medio microbiológico destinado a la recolección, transporte y preservación de muestras clínicas, en general es un gel no nutriente de agar blando que contiene un agente reductor para evitar la oxidación, y el carbón vegetal para neutralizar (Gacía,

2021, párr. 1). El medio de Stuart permite conservar y transporten infinidad de microorganismos patógenos como *Shigellas* sp, *Salmonella* sp, *Streptococcus* sp, *Trichomonas vaginalis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Heamophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, entre otros, una de las características de este medio es que dificulta las reacciones enzimáticas de autolisado, además la ausencia de una fuente de nitrógeno evita que se prolifere la flora acompañante. Microorganismos presentes puedan sobrevivir durante un período de tiempo suficientemente largo (mdmcientifica, 2017, párr. 2).

## 2.7 Pruebas bioquímicas

Las pruebas bioquímicas permiten determinar las características metabólicas de las bacterias de objeto de identificación. Algunas son rápidas, ya que evalúan la presencia de una enzima preformada y su lectura varía entre unos segundos hasta unas pocas horas, otras pruebas requieren para su lectura el crecimiento del microorganismo con una incubación previa de 18 a 48 horas (Fernández et al, 2011).

Este medio se utiliza para el aislamiento de bacilos Gram negativos de fácil desarrollo, aerobios y anaerobios facultativos a partir de muestras clínicas, aguas y alimentos. Todas las especies de la familia Enterobacteriaceae se desarrollan en el mismo. Su fórmula cumple con los requerimientos de la Armonización de Farmacopeas Europea, Japonesa y de los Estados Unidos de Norteamérica (EP, JP y USP respectivamente) (mdmcientifica, 2017, párr. 1).

*Proteus penneri* es indistinguible en los medios de cultivo habituales de *P. mirabilis* y *P. vulgaris*. En medio de agar sangre presenta el típico crecimiento en ondas, en ocasiones menos acentuado, y colonias lactosa negativa planas con bordes irregulares en medio de McConkey. Al

igual que los anteriores, tiene un olor característico y, como *P. vulgaris*, es capaz de producir indol a partir del triptófano. No obstante, puede diferenciarse de éste por su negatividad en las pruebas de la ornitina decarboxilasa y su imposibilidad para utilizar la maltosa (tabla 1). *P. penneri* también se caracteriza por su negatividad en la utilización de la salicina y la esculina. Algunos autores han señalado que, tras una incubación prolongada de tres días de los caldos utilizados para la prueba de indol, se produce un color verde característico al revelarlo con el reactivo de Kovacs y no el color rojo habitual (Cantón & Sánchez, 2010, p. 2).

#### 2.7.1 Aislamiento e identificación de *Escherichia coli*:

El Agar MacConkey Sorbitol (CT-SMAC) es un medio selectivo para el aislamiento y diferenciación de *Escherichia coli* O157:H7 en la leche, carne cruda y otros productos alimenticios, agua y muestras clínicas (Bioser, 2020) .

#### 2.7.2 Identificación de *E.coli* por pruebas bioquímicas

El agar EMB se trata de un medio selectivo diferencial para aislar e identificar enterobacterias, principalmente *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes* en productos de la industria farmacéutica, cosmética y agroalimentaria incluyendo el agua (Bioser, 2020).

#### 2.8 Aislamiento de *Proteus mirabilis*

El género *Proteus* es indistinguible en los medios de cultivo habituales por otra parte en medio de agar sangre presenta el típico crecimiento en ondas, en ocasiones menos acentuado, y colonias lactosa negativa planas con bordes irregulares en medio de McConkey (Bagginis, 2014) .

### 2.8.1 Identificación de *Proteus mirabilis*

El género *Proteus* fue identificado por su propiedad de invadir en agar base, mediante las siguientes pruebas bioquímicas: fermentación de glucosa, sacarosa y lactosa, producción de sulfuro de hidrógeno y producción de gas a partir de glucosa, empleando en los tres casos agar TSI; desaminación de la lisina (agar LIA) (Castro, 2006).

### 2.9 Aislamiento de *Streptococcus* spp

La identificación de los *Streptococcus* por métodos convencionales es complejo. Las cepas clínicas, en varias ocasiones, no se identifican por especie, sino que se hace por su determinación antigénica mediante la clasificación serológica de Lancefiel, el agar MacConkey Agar es sólo ligeramente selectivo, dado que la concentración de sales biliares, que inhiben los microorganismos gram positivos, es baja en comparación con otros medios de siembra en placa entéricos. Se recomienda el uso de este medio con muestras clínicas que posiblemente contengan flora microbiana mixta, tales como la orina y muchas otras más, dado que permite una agrupación preliminar de Enterobacteriaceae y otros bacilos Gram negativos en fermentadores y no fermentadores de lactosa.

#### 2.9.1 Pruebas para identificación de *Streptococcus* spp

##### 2.9.1.1 Sensibilidad a la bacitracina

Este método tiene como objetivo separar el *Streptococcus pyogenes* de los demás estreptococos beta hemolíticos. Se base en que el 99% de las cepas de *Streptococcus pyogenes* son sensible a bajas concentraciones de bacitracina (discos con 0,04 U). Un 5% de las cepas de *Streptococcus agalactiae* son sensibles a la bacitracina (Dalton, 2022).

### 2.9.1.2 Prueba de CAMP

Este método tiene como objetivo separa *Streptococcus agalactiae* de los demás estreptococos B-hemolíficos, trata de que los estreptococos del grupo B producen una proteína extracelular difusible llama “factor CAMP” (iniciales de los autores que lo describieron) que actúa sinérgicamente con la B-lisina de *S. aureus*, potenciando la lisis de los eritrocitos (Dalton, 2022).

### 2.10 Pruebas de sensibilidad o antibiogramas

El antibiograma se realiza para bacterias y hongos, una vez se sospecha que estas son los responsables de una infección este método se lleva a cabo mediante un cultivo. La prueba determina la eficacia de un agente antimicrobiano frente al microorganismo que ocasiona la infección y esto también determina si el microorganismo ha desarrollado resistencia a ciertos antibióticos (Vazquez, 2022).

Las pruebas de sensibilidad se realizan *in vitro* por ello, las pruebas de sensibilidad no siempre predicen los resultados de la terapia.

Los métodos cualitativos son menos precisos que los semicuantitativos. Los resultados generalmente se informan en una de las siguientes formas:

- Susceptible (S)
- Intermedia (I)
- Resistente (R)

El método de difusión en disco más comúnmente usado (también conocido como prueba de Kirby-Bauer) óptimo para organismos con crecimiento rápido, se basa en la colocación de discos

impregnados con AB denominado control positivo en placas con agar inoculadas con el microorganismo que se necesita probar.

Después de la incubación (en una media de 18 h), se mide el diámetro del halo de inhibición que es el que rodea a los discos embebidos AB. Los resultados de esta prueba son útiles para seleccionar el fármaco o la combinación de fármacos que sean más efectivos para tratar la infección (Vazquez M. , 2022).

#### 2.11 Resumen del estado del arte del estudio del problema

Según lo mencionado por (Casetti, 2016) (p.26) estudios realizados en numerosos países informan que la tasa de prevalencia de la EP se encuentra entre el 60 y el 80 %. La EP afecta la salud sistémica, pues existe una correlación positiva entre la severidad de la EP y cambios histológicos observados en corazón, pulmones, riñón e hígado de caninos.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Diseño

El diseño empleado para esta investigación es de tipo experimental, con forma transversal ya que se obtuvo información real directamente de los caninos con enfermedad periodontal, para determinar mediante laboratorio la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *Ocotea quixos* (Ishpingo) y *Cymbopogon citratus* (Hierba Luisa).

### 3.2 Población y muestra

El tipo de muestreo probabilístico que se empleará en esta investigación será el muestreo probabilístico aleatorio simple.

La población estudiada se conformó de las muestras obtenidas de perros con enfermedad periodontal para determinar la presencia de bacterias gingivales y de esta manera aislar las bacterias para evaluar el efecto antimicrobiano del aceite esencial de Ishpingo (*Ocotea quixos*) y Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*).

Para estimar la población y muestra se utilizó la fórmula para el cálculo de la muestra de poblaciones finitas, la cual es:

$$n = \frac{z^2 \cdot p \cdot q}{d^2}$$

Dónde:

$n$  = Tamaño muestral

$z$  = distribución de gauss,  $z_{\alpha=0.05} = 1.96$  y ,  $z_{\alpha=0.01} = 2.58$

$p$  = prevalencia esperada

$q = 1-p$  (si  $p = 70\%$ ,  $q = 30\%$ )

$d$  = error estimado

En esta investigación aplicamos un nivel de confianza del 95% ( $z=1,96$ ); prevalencia del 10% ( $p=0,10$ ) por lo tanto  $q=0,90$  y con un margen de error del 5% ( $d=0,05$ ).

$$n = \frac{1,96^2 * 0,10 * .0,90}{0,05^2} = 140 \text{ perros}$$

El tamaño mínimo de la muestra es 138, 30 redondeando a 140 para obtener resultados más precisos.

### 3.3 Estadística

Para la presente investigación se usó un DCA par con cinco tratamientos y tres repeticiones, posteriormente se usó el método estadístico de Duncan para comparación de tratamientos.

### 3.4 Recolección de muestras

Se recolectaron muestras de caninos con enfermedad periodontal en diferentes Clínicas Veterinarias de la Ciudad de Cuenca mediante el método de hisopado, el cuál consistió en frotar con hisopo de Stuart en el área gingival y dientes de los caninos, luego se transportó las muestras a los laboratorios de microbiología de la Universidad Politécnica Salesiana – Sede Cuenca.

### 3.5 Procesamiento de las muestras

Las muestras para el aislamiento e identificación de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas se procesaron en los laboratorios de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana – Sede Cuenca; Según la investigación de Según la investigación de (Vargas, 2019), las muestras fueron recolectadas mediante hisopos estériles en medio Stuart, posteriormente se sembró en agar sangre al 5%, para el aislamiento de microorganismos aerobios y determinar la capacidad hemolítica de los mismos y agar Mac-Conkey para la selección de bacilos Gram negativos no exigentes y su diferenciación de acuerdo con la fermentación.



### 3.6 Identificación de bacterias obtenidas de las muestras

Después de 24 horas de incubación a 37°C, se visualizará el crecimiento y se realizará coloración de Gram para confirmar morfología y afinidad por la tinción. Una vez realizada la descripción macro y microscópica se realizará catalasa y oxidasa y la identificación mediante pruebas bioquímicas.

### 3.7 Determinación de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales mediante pruebas de sensibilidad por discos.

#### 3.7.1 Estandarización del inóculo

Para la estandarización de la muestra existe un método suspensión directa de colonias que es más efectivo que proveerá resultados precisos para ciertos microorganismos. La suspensión debe ser estandarizada al estándar 0.5 de McFarland (alrededor de  $1.5 \times 10^8$  UFC/mL). Se debe utilizar el inóculo dentro de un tiempo determinado (15 minutos).

#### Equipos

- Espectrofotómetro

#### Materiales

- Asa micológica
- Tubo de ensayo
- Mechero
- Solución salina al 0.9 %
- Celdas

- Jeringuilla

## Procedimiento

Para realizar este método las colonias no deben sobrepasar las 18 a 24 horas de incubación, se suspendió las colonias en una solución salina (suero fisiológico al 0.9 %), se ajustó el inóculo a una turbidez equivalente al estándar 0.5 de McFarland en el espectrofotómetro. Este procedimiento es modificado de Cavalieri et al., (2005) en el libro “Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana”, esta metodología es muy utilizada por su efectividad con ciertos microorganismos, además para bacterias fastidiosas que tienen un crecimiento imprescindible como estreptococos.

### 3.7.2 Método de suspensión directa de colonias

Para realizar este método las colonias no deben sobrepasar las 24 horas de incubación, se suspendió las colonias en una solución salina (SSF al 0,9%), se ajustó el inóculo a una turbidez equivalente al estándar 0,5 de McFarland y se comparó la turbidez de las suspensiones. Este método es utilizado por su efectividad con ciertos microorganismos como estafilococos y bacterias fastidiosas que presentan un crecimiento impredecible en caldo (Cavalieri et al., 2005).

### 3.7.3 Preparación de aceite esencial a concentraciones de 3,125%, 6,25%, 12,5% y 25%

Los aceites esenciales de ishpingo y hierba luisa fueron adquiridos en la fundación chankuap la cual garantiza la inocuidad de sus aceites para su uso in vitro para la comprobación de la tesis planteada.

Se comenzó con una concentración de aceites esenciales al 100%, se preparó una concentración al 3,125%, mediante la dilución de 3,125  $\mu$ L de aceite esencial en un tubo que contenía 96,87  $\mu$ L

de dimetil-sulfóxido (DMSO), para la concentración al 6,25% se diluyó 6,25  $\mu\text{L}$  de aceite esencial con 93,75  $\mu\text{L}$  de DMSO, para la concentración al 12,5% se diluyó 12,5  $\mu\text{L}$  de aceite esencial con 87,5  $\mu\text{L}$  de DMSO, para la concentración al 25% se diluyó 25  $\mu\text{L}$  de aceite esencial con 75  $\mu\text{L}$  de DMSO.

#### 3.7.4 Preparación para la inoculación de la placa

Se retiró del congelador los discos de sensibilidad para antibiograma, estos fueron equilibrados a temperatura ambiente por dos horas, con la finalidad de reducir la condensación y la posibilidad de que la humedad afecte la concentración de los agentes antimicrobianos, se acondicionó las placas de Agar Mueller-Hilton (MHA) a 20 °C para evitar cualquier exceso de humedad, a manera de acelerar este proceso se colocó las placas entreabiertas la cámara de flujo laminar por 10-15 minutos, la profundidad adecuada de MHA dentro de la placa es de 4 mm.

#### 3.7.5 Inoculación de la placa

La inoculación de la placa se realizó dentro de los 15 minutos siguientes a la estandarización del inóculo, con la ayuda de un hisopo se inoculó la placa MHA partiendo desde la superficie frotando de ida y vuelta, de un borde a otro, se rotó la placa 60° y se repitió el proceso de frotado, garantizando que el inóculo se distribuya homogéneamente.

#### 3.7.6 Método de caja petri invertida

Esta es una técnica nueva que se está estudiando en los últimos años, siendo muy utilizada en múltiples áreas de microbiología, biotecnología. Caja Petri invertida es cualitativa-cuantitativa, sus resultados son medibles y se pueden interpretar como sensible, intermedio o resistente (Reyes Jurado, Palou, & López Malo, 2014).

## Equipos

- Autoclave
- Cámara de flujo laminar

## MATERIALES

- Agar Mueller Hinton
- Hisopos estériles
- Papel filtro estéril
- Puntas para pipeta estériles
- Mecheros
- Inóculo
- Cajas Petri

## Procedimiento

Aplicación de discos con agentes antimicrobianos Los discos con los agentes antimicrobianos son colocados 15 minutos después de la inoculación de la placa MHA. Con la ayuda de una pinza se aplicaron los discos de sensibilidad (control positivo), discos con agua destilada (control negativo), discos embebidos con cada una de las concentraciones de aceite esencial, presionando firmemente para asegurar el contacto completo con la superficie del agar, se invirtieron e incubaron las placas a 37 °C por 24 horas (Mira Naranjo, 2017).

## Medición de halos de inhibición

Se retiró de la incubadora las placas contenedoras de discos, se examinó detenidamente verificando el crecimiento, y que se puedan identificar las zonas sin crecimiento bacteriano, se colocó la placa sobre una superficie de color negro y se procedió a medir el diámetro formado por los halos de inhibición con la ayuda de una regleta.

### 3.8 Operalización de variables

#### 3.8.1 Variable dependiente: Concentraciones de los aceites esenciales y bacterias identificadas

Tabla 6

*Variables dependientes*

Concepto	Categorías	Indicadores	Variables
<ul style="list-style-type: none"> <li>Concentraciones de los aceites esenciales de <i>Cymbopogon citratus</i> y <i>Ocotea quixos</i>.</li> </ul>	Numérica	<ul style="list-style-type: none"> <li>Diluciones de los aceites (25, 12.5, 6.25 y 3.12 %)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Cuantitativa</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Identificación de bacterias gingivales patógenas.</li> </ul>	Biológica	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mediante pruebas bioquímicas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Cualitativa</li> </ul>

*Fuente:* Autora

3.8.2 Variable independiente: acción antimicrobiana de los aceites esenciales de Ishpingo (*Ocotea quixos*) y Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus*).

Tabla 7

*Variable independiente*

Concepto	Categoría	Indicadores	Variables
Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Biológica</li> <li>Biológica</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Inhibición bacteriana o replicación bacteriana.</li> <li>Aceites esenciales de Ishpingo y Hierba luisa</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Cuantitativa</li> <li>Concentración: 25%, 12.5%, 6,25% y 3.125%</li> </ul>

*Fuente:* Autora

### 3.9 Consideraciones éticas

Según la (Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario, 2021) informa que en el Artículo 4.- Establece la competencia de los Comités de Ética para la Investigación en animales para evaluar la ética y validez científica de protocolos de investigación y protocolos implementados en la educación, con el fin de garantizar el trato humanitario de los animales cuando fuere solicitado de manera formal, según los procedimientos establecidos en la presente norma.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Recolección y procesamiento de muestras

Para la recolección de las muestras de los caninos participantes se consideró la edad y el sexo de animales domésticos como se detalla en la siguiente tabla 8.

Tabla 8

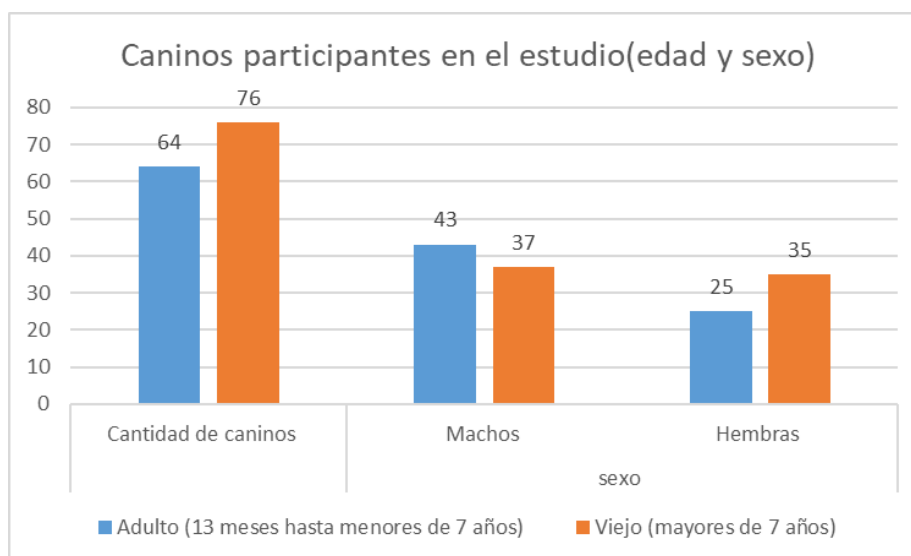
*Caninos participantes distribuidos por edad y sexo*

Edad	Cantidad de caninos	Sexo	
		Machos	Hembras
Adulto (13 meses hasta menores de 7 años)	64	43	25
Viejo (mayores de 7 años)	76	37	35

*Fuente: Autora*

De las 140 muestras analizadas en la presente investigación, 57.14% correspondieron a caninos macho y el 42.86% a caninos hembra, de los cuales se los categorizó por la edad, en caninos adultos en un rango de 13 meses hasta los 7 años y caninos viejos a los mayores de 7 años, obteniendo en machos, 43 y 37 respectivamente y para caninos hembra 25 y 35 respectivamente.





*Figura 3. Caninos participantes*

*Fuente: Autora*

Las enfermedades periodontales que afectan a los caninos, está en relación a la edad de los pacientes, seguido del sexo y la alimentación, según Sánchez (2021) en su estudio determinó que la mayor incidencia de enfermedades periodontales en especial la gingivitis, se presenta desde los 18 meses hasta los 6 años, en caninos mayores a 6 años la incidencia disminuye debido a que aumenta la pérdida de piezas dentales. Sin embargo, en el presente estudio se analizó caninos que ya presentaban enfermedades periodontales desde los 13 meses hasta los 7 años y mayores a 7 años, siendo la mayor población caninos viejos.

## 4.2 Identificación de bacterias

En las siguientes tablas se describe la identificación de los principales microorganismos presentes en los caninos evaluados con enfermedades periodontales, la bacteria encontrada en mayor porcentaje en los caninos fue *Escherichia coli* (38), seguido de *Streptococcus spp* (12). Estos resultados se separaron de acuerdo con la edad y el sexo de cada canino participante.

Tabla 9  
*Escherichia coli* en caninos de acuerdo a la edad y sexo

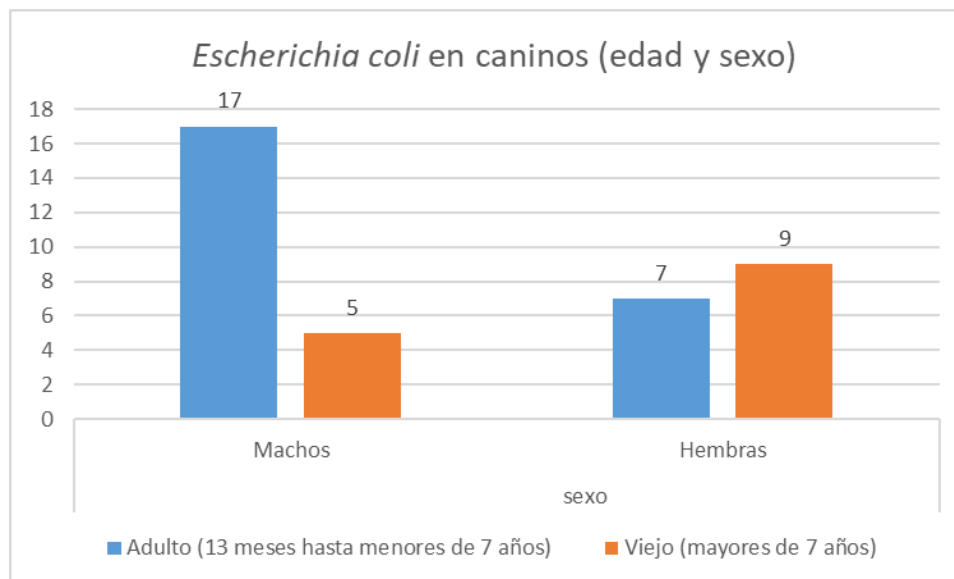
Edad	Sexo	
	Machos	Hembras
Adulto (13 meses hasta menores de 7 años)	17	7
Viejo (mayores de 7 años)	5	9

Fuente: Autora

La presencia de microorganismos patógenos en la cavidad bucal de los caninos es una de las causas que influye en la aparición de enfermedades periodontales, encontrándose en la mayoría de los casos microorganismos aerobios y anaerobios como *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter sakazakii*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococos durans*, *Enterococos faecalis*, *Eikenella corrodens*, *Porphyromonas endodontalis*, *Fusobacterium spp.* y *Capnocytophaga spp* (Corrales, Antolínez, Bohórquez , & Corredor, 2019). El estudio realizado por Anton (2020) se identificaron microorganismos como *Enterococos spp.* con un 44,44%, *Aspergillus spp.* con un 25,92%, *Proteus spp.* con un 3,70%, *Blastomyces dermatitidis* 7,40%, *Staphylococcus spp.* con un 18,51% y ausencia de *Escherichia coli*, de un total de 27 caninos con enfermedades gingivo-periodontales, además determinó que el 62,96% de los caninos que

presentaron enfermedades periodontales tenían entre 3 y 4 años de edad. A diferencia del presente estudio en donde las principales bacterias fueron *Escherichia coli* y *Streptococcus spp.*

En comparación a esta investigación, Corrales (2019) analizó 29 muestras tomadas de caninos en estado de abandono en donde aisló 59 bacterias, entre las que destacaron *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus durans* y *Enterococcus faecalis*, entre otras; la presencia de estas especies puede deberse principalmente al estado de los caninos, ya que en el estudio se evaluaron perros en estado de abandono.



*Figura 4. Escherichia coli en caninos*

*Fuente: Autora*

A pesar de que escasos estudios determinan que *Streptococcus spp* está presente en enfermedades periodontales, se conoce que estas bacterias son parte de la cavidad oral sana de perros, principalmente del tipo anaerobia facultativa, estas bacterias pueden desencadenar procesos inflamatorios o provocar lesiones que pueden incidir en el desarrollo de enfermedades

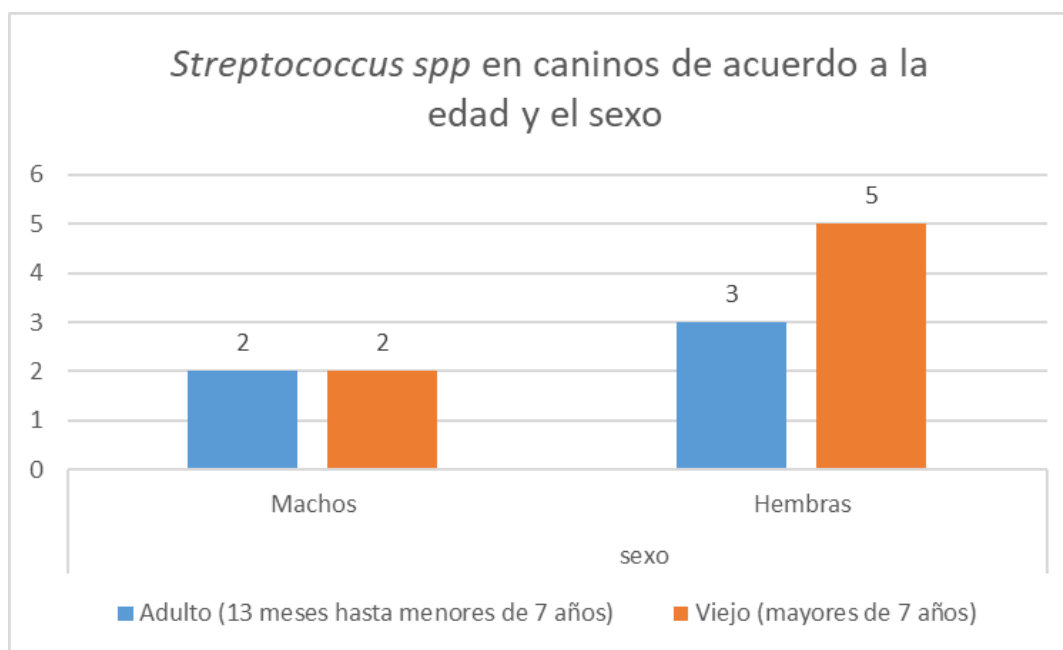
periodontales (Corrales, Antolinez, Bohórquez , & Corredor, 2019). Cabe destacar que factores como la alimentación, edad, sexo influyen en la aparición de las enfermedades periodontales y a su vez de la presencia de diversos microorganismos (Anton & Arriaga, 2020).

Tabla 10

*Streptococcus spp en caninos de acuerdo a la edad y sexo*

Edad	Sexo	
	Machos	Hembras
Adulto (13 meses hasta menores de 7 años)	2	3
Viejo (mayores de 7 años)	2	5

*Fuente: Autora*



*Figura 5. Streptococcus spp. en caninos*

*Fuente: Autora*

### 4.3 Determinación de la actividad antimicrobiana

Según la escala de Duraffourd (como se citó en Checalla & Sánchez, 2020) para evaluar e interpretar los resultados de los diámetros de inhibición obtenidos se tomará como referencia dicha escala con respecto a la sensibilidad de una cepa bacteriana frente a antimicrobianos.

Tabla 11

*Escala duraffourd*

Nivel de sensibilidad	Valores
1. Nula (-)	Si fue inferior o igual a 8 mm
2. Sensible (Sensible = +)	De 9 a 14 mm
3. Muy sensible (muy sensible = ++)	De 15 a 19 mm
4. Sumamente sensible (S.S = +++)	Si fue igual o superior a 20 mm

*Fuente:* Autora

En las tablas siguientes tablas se describen los resultados obtenidos, expresados como las medias del diámetro de inhibición del crecimiento bacteriano de los aceites esenciales de *Ocotea quixos* y *Cymbopogon citratus* a diferentes concentraciones, frente a *Escherichia Coli* y *Streptococcus spp.* respectivamente, teniendo que, de 38 muestras, 4 de estas presentaron resistencia al antibiótico de control y por consiguiente al aceite esencial de *Ocotea quixos* frente a *Escherichia coli* a las diferentes concentraciones exceptuando la concentración de 3,12% en la muestra 19.

Tabla 12

*Diámetro en milímetros de halos de inhibición alcanzados por el A. E. Ocotea quixos (Ishpingo) frente a Escherichia coli.*

Total Muestras	$\bar{X}$ Halos de inhibición (mm)				Control positivo	Control negativo
	Concentraciones del A.E					
	25%	12,5%	6,25%	3,12%		
1	11	9	8,33	7,33	20,66	6
2	10,33	9,33	8	7	22	6
3	12,33	9	8	7	19,66	6
4	0	0	0	0	0	6
5	11	9,33	8,33	7,33	20,33	6
6	11,33	9,66	8,33	7,66	22,33	6
1	12,33	10,66	9,66	8	21,33	6
8	10,66	9,66	8	7	21,66	6
9	11,33	10	8,66	8	20,33	6
10	11,33	10,33	8,33	7,33	22,33	6
11	11	9,66	8,33	7	23,33	6
12	10,66	9,33	9	7,66	21	6
13	12	10,66	9	8,66	21,66	6
14	0	0	0	0	0	6
15	10,33	9,66	8,33	7	24,66	6
16	11,66	11	10,33	9,33	21,33	6
17	12,66	11	10	8,66	21,66	6
18	10,66	9,66	8,66	7,66	24,66	6
19	0	0	0	14	0	6
20	10,66	9,66	8,33	7	20,66	6
21	11,33	11	9,33	8,33	23,66	6

22	10,33	9,33	8	7,33	22	6
23	11,33	10	8	7,33	23,33	6
24	10,66	8,66	8,66	7	20,33	6
25	11,33	8	8,66	7,33	24,33	6
26	0	0	0	0	0	6
27	12,33	11,33	10,33	8,66	21,33	6
28	11	9,66	9	8,66	20,33	6
29	10,66	8	8	7	24,66	6
30	11	9,33	10	8,66	20,33	6
31	10,33	9,66	8,66	7	20,66	6
32	12,66	11	8,33	8,33	22,66	6
33	11	9,33	8	7	23,66	6
34	11,66	10,33	8	9	20,33	6
35	10,33	8,66	7,66	9	20,33	6
26	10	9,33	8	7	21	6
37	11,66	10	9,33	11	22,33	6
38	10,66	8,66	7,33	9	20,66	6

---

*Fuente:* Autora

Tabla 13

Diámetro en milímetros de halos de inhibición alcanzados por el A. E. *Ocotea quixos* (Ishpingo) frente a *Streptococcus* spp.

Total Muestras	$\bar{X}$ Halos de inhibición (mm)				Control positivo	Control negativo
	Concentraciones del A.E					
	25%	12,5%	6,25%	3,12%		
1	10,60	8,00	8,00	7	22,33	6
2	11,00	8,00	8,00	7	21,00	6
3	10,60	8,00	8,00	7	23,33	6
4	10,30	9,00	8,00	7	24,66	6
5	11,00	8,00	8,00	7	21,33	6
6	12,00	8,00	8,00	7	21,33	6
7	12,00	9,00	8,00	7	20,33	6
8	10,60	9,00	7,00	7	22,66	6
9	12,00	8,00	8,00	7	23,66	6
10	11,00	8,00	8,00	7	20,66	6
11	10,00	9,00	8,00	7	21,66	6
12	10,60	9,00	8,00	7	23,33	6

Fuente: Autora



Tabla 14

*Diámetro en milímetros de halos de inhibición alcanzados por el A. E. Cymbopogon citratus (Hierba luisa) frente a Escherichia coli.*

Total Muestras	$\bar{X}$ Halos de inhibición (mm)				Control positivo	Control negativo
	Concentraciones del A.E					
	25%	12,5%	6,25%	3,12%		
1	11,33	10,66	8,66	6,66	20,66	6
2	13,33	12	10	8	22	6
3	12	10,66	8,33	7,66	19,66	6
4	0	0	0	0	0	0
5	12	10,66	8,33	7	20,33	6
6	13	11	8	7,33	22,33	6
1	13	10	8,66	7,33	21,33	6
8	12,66	10,33	8,33	7,33	21,66	6
9	12,33	11	9,66	8	20,33	6
10	13	11,66	10,33	8,66	22,33	6
11	12,33	11,66	10,66	9,66	23,33	6
12	11,66	10,33	8,66	7,66	21	6
13	12	10,66	9,33	8	21,66	6
14	0	0	0	0	0	0
15	13,66	12	10,66	9,33	24,66	6
16	13,66	12,33	11	9,33	21,33	6
17	13	10,66	8,33	7,33	21,66	6
18	12,33	9,66	8	7	24,66	6
19	0	0	0	0	0	0
20	12,66	10,66	9,33	8	20,66	6
21	12,66	11,33	9	7,33	23,66	6
22	13,66	11	7,33	7	22	6
23	13	9,33	7,66	7	23,33	6
24	12,66	10,66	8,33	7,33	20,33	6
25	14	10,66	8,33	7,33	24,33	6
26	0	0	0	0	0	0
27	13	11,33	10,33	9	21,33	6
28	12,66	11	9,33	8,33	20,33	6
29	13,66	11,66	11	8,33	24,66	6
30	14	12,66	11,66	9,66	20,33	6
31	13,66	12	10,33	9,33	20,66	6

32	12,66	12,33	10,33	8,66	22,66	6
33	13	10,3	9,33	8	23,66	6
34	12,33	10	8	7,33	20,33	6
35	12,66	11,33	8,33	7	20,33	6
26	12	10	8	7,33	21	6
37	13,66	12,66	11,66	9,33	22,33	6
38	12	10,66	9,33	8,33	20,66	6

Fuente: Autora

Tabla 15

Diámetro en milímetros de halos de inhibición alcanzados por el A. E. Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) frente a *Streptococcus spp.*

Total Muestras	$\bar{X}$ Halos de inhibición (mm)				Control positivo	Control negativo
	Concentraciones del A.E					
	25%	12,5%	6,25%	3,12%		
1	12	10,6	8	7	22,33	6
2	12	10	8	7	21,00	6
3	11	10	8	7	23,33	6
4	12	10	8	7	24,66	6
5	12	10	8	7	21,33	6
6	11	10	8	7	21,33	6
7	12	10,6	8	7	20,33	6
8	10	10	8	7	22,66	6
9	12	10	8	7	23,66	6
10	12	11	7	7	20,66	6
11	12	11	8	7	21,66	6
12	12	10	8	7	23,33	6

Fuente: Autora

En las siguientes tablas se expresan los porcentajes de inhibición correspondientes a la capacidad de inhibición de los aceites esenciales de *Cymbopogon citratus* y *Escherichia coli*,

siendo el aceite esencial de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) el que presentó mayor efecto inhiitorio, alcanzando el 52,7 % de inhibición a una concentración del 25%. Corroborando con el presente estudio, Bermúdez (2019) de igual manera determinó que el aceite esencial de *Cymbopogon citratus* presenta un efecto de inhibición superior al 50% en géneros bacterianos como *Escherichia*.

Por otro lado, Subramaniam (2020) demostró que la inhibición sobre las bacterias gram positivas era significativamente mayor que con gram negativas, Shendurse (2021) de igual forma determinó los halos de inhibición de bacterias gram positivas del tipo *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* y *Bacillus cereus*, sin embrago, no presentó zonas de inhibición para *Escherichia Coli*, pero permitiéndole catalogarlo como potencial antibacteriano al aceite esencia de *Cymbopogon citratus*.

Tabla 16

*Promedio del porcentaje del efecto de inhibición del A. E. Ocotea quixos (Ishpingo) frente a Cymbopogon citratus (hierba luisa)*

Total de muestras por concentración	Concentraciones de A. E.	% del efecto de inhibición del AE.	
		<i>Ocotea quixos</i>	<i>Cymbopogon citratus</i>
38	25%	45,48	52,71
	12,50%	41,36	45,41
	6,25%	35,50	32,34
	3,13%	32,48	32,81

*Fuente: Autora*

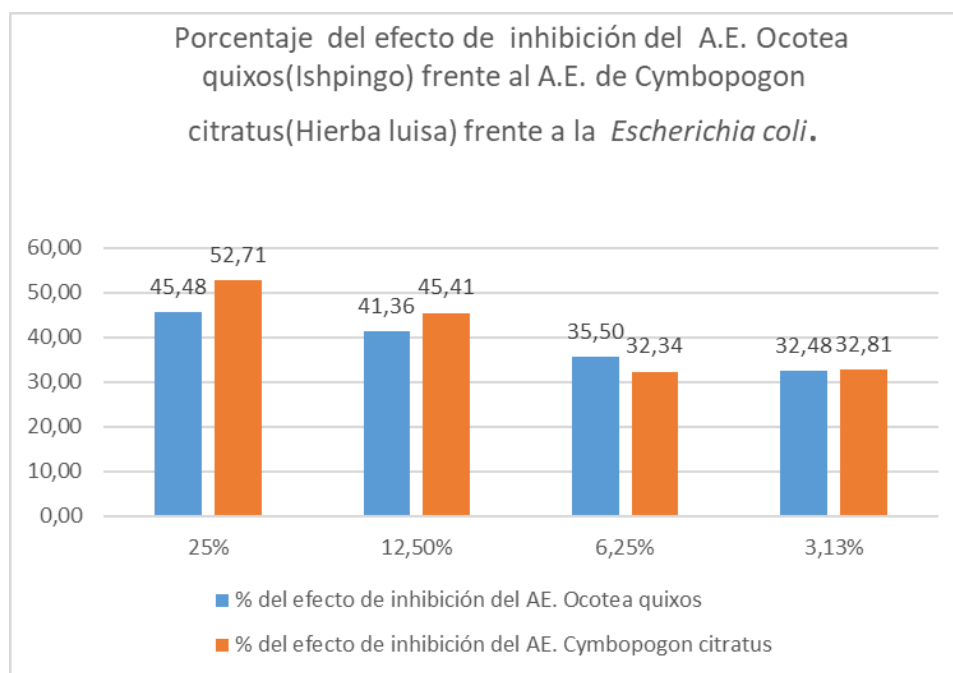


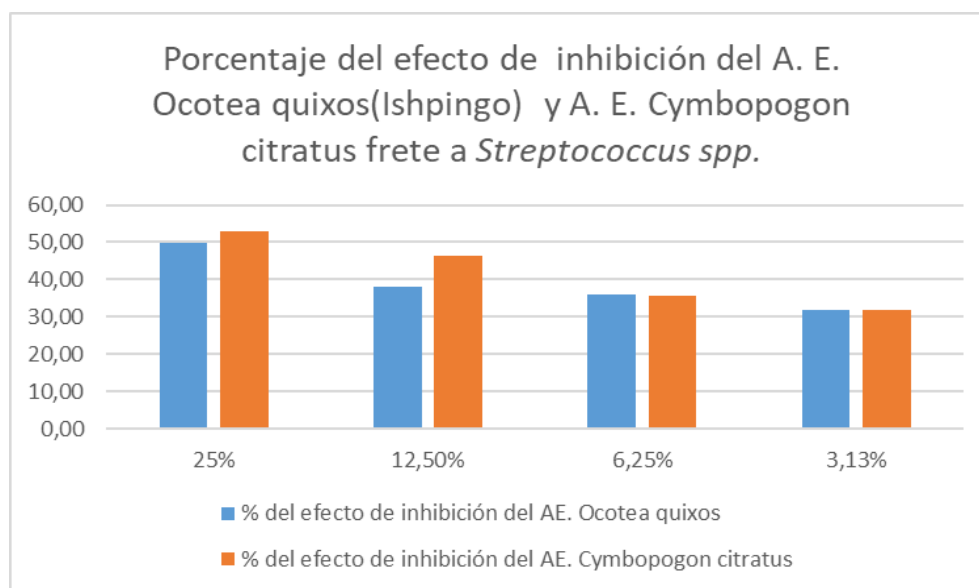
Figura 6. Ishpingo frente a hierba luisa frente a la *Escherichia coli*  
Fuente: Autora

Tabla 17

Promedio del porcentaje del efecto de inhibición del A. E. *Ocotea quixos* (Ishpingo) y *Cymbopogon citratus* (Hierba luisa) frente al *Streptococcus spp.*

Total de muestras por concentración	Concentraciones de A. E.	% del efecto de inhibición del AE.	
		<i>Ocotea quixos</i>	<i>Cymbopogon citratus</i>
12	25%	49,69	52,78
	12,50%	38,03	46,47
	6,25%	35,81	35,77
	3,13%	31,65	31,65

Fuente: Autora



*Figura 7. Ishpingo y hierba luisa frente a streptococcus spp*

*Fuente: Autora*

El efecto antibacteriano del aceite esencial de *Ocotea quixos* fue relativamente menor en comparación con el aceite de *Cymbopogon citratus*, sin embargo, al 25% presentó mayores halos de inhibición teniendo un 45 y 49% de inhibición frente a *Escherichia coli* y *Streptococcus spp* respectivamente. La actividad antimicrobiana del aceite esencial de la especie no se ha evaluado con mayor profundidad, no obstante, en el estudio realizado por Goulart (2022) se comprobó el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Ocotea quixos* frente a cepas gram positivas y gram negativas (*E. coli*), además de destacar su actividad anti fúngica.

#### 4.3.1 Métodos estadísticos aplicados para la determinación *in vitro* de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de Ishpingo (*Ocotea quixos*) y Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*).

Se realizó un DCA par con cinco tratamientos y tres repeticiones con el objetivo de aprobar o rechazar la hipótesis planteada. Y se usó un Adeva para evaluar el coeficiente de variación en condiciones controladas que equivale al 10-12% de confiabilidad (Webster, 2021).

Ha: Existe efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de Ishpingo (*Ocotea quixos*) y Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) sobre cepas de “*Escherichia coli*”, “*Proteus mirabilis*” y “*Streptococcus spp*” causantes de enfermedad periodontal en caninos. Para aprobar la Ha se debe tomar en cuenta que no hay muestras positivas para *Proteus mirabilis* dentro de esta investigación.

Ho: No existe efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de Ishpingo (*Ocotea quixos*) y Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) sobre cepas de “*Escherichia coli*”, “*Proteus mirabilis*” y “*Streptococcus spp*” causantes de enfermedad periodontal en caninos.

Tabla 18

*DCA par A.E. de Ocotea quixos contra Escherichia.coli*

F de V	gl	ADEVA			f.cal	f.tab
		SC	CM			
Total	14	363,19			5%	1%
Tto.	4	359,10	89,77	219,20	3,48	5,99
E.exp	10	4,10	0,41			

Fuente: Autora

Conclusión: se aprueba la Ha debido a que existe inferencia estadística con respecto de fcal 219,20 es altamente significativo en relación al ftab al 5% y 1% respectivamente; por otra parte, se rechaza la H0. El CV: indica la confiabilidad del experimento y este equivale a 5,95%.

Tabla 19

*DCA par A.E. de Ocotea quixos contra Streptococcus spp*

ADEVA						
F de V	gl	SC	CM	f.cal	f.tab	
Total	14	469,79			5%	1%
Tto.	4	469,09	117,27	1675,48	3,48	5,99
E.exp	10	0,70	0,07			

*Fuente: Autora*

Conclusión: se aprueba la Ha debido a que existe inferencia estadística con respecto de fcal 1675,48 es altamente significativo en relación al ftab al 5% y 1% respectivamente; por otra parte, se rechaza la H0. El CV: indica la confiabilidad del experimento y este equivale a 2,31%.

Tabla 20

*DCA par A.E. de Cymbopogon citratus contra Escherichia.coli*

ADEVA						
F de V	gl	SC	CM	f.cal	f.tab	
Total	14	333,41			5%	1%
Tto.	4	329,09	82,27	190,36	3,48	5,99
E.exp	10	4,32	0,43			

*Fuente: Autora*

Conclusión: se aprueba la  $H_a$  debido a que existe inferencia estadística con respecto de  $f_{cal}$  190,36 es altamente significativo en relación al  $f_{tab}$  al 5% y 1% respectivamente; por otra parte, se rechaza la  $H_0$ .

El CV: indica la confiabilidad del experimento y este equivale a 5,77%.

Tabla 21

*DCA par A. E. de Cymbopogon citratus contra Streptococcus spp*

ADEVA						
F de V	gl	SC	CM	f.cal	f.tab	
Total	14	448,15			5%	1%
Tto.	4	448,04	112,01	9700,56	3,48	5,99
E.exp	10	0,12	0,01			

*Fuente: Autora*

Conclusión: se aprueba la  $H_a$  debido a que existe inferencia estadística con respecto de  $f_{cal}$  9700,56 es altamente significativo en relación al  $f_{tab}$  al 5% y 1% respectivamente; por otra parte, se rechaza la  $H_0$ . El CV: indica la confiabilidad del experimento y este equivale a 0,88%.

El uso de DCA par en esta investigación se dio debido a que el diseño completamente al azar es el más sencillo de los diseños experimentales porque tratan de comparar dos o más tratamientos, puesto que sólo considera dos fuentes de variabilidad: los tratamientos y el error aleatorio (Yepes, 2013).



#### 4.3.2. Prueba de significación de Duncan al 5% de significación.

Se partió de un DCA par y su respectivo análisis ADEVA con el cuál se pudo realizar la prueba de significación Duncan, los resultados le dirán si hay una diferencia en las medias . Sin embargo, no señalará qué medios son diferentes. La prueba de rango múltiple de Duncan es una prueba post hoc para medir diferencias específicas entre pares de medias (Benites, 2019, párr. 1).

Se trabajó bajo el planteamiento de las hipótesis:

Ha todos los tratamientos funcionan a los diferentes niveles de concentración de aceite.

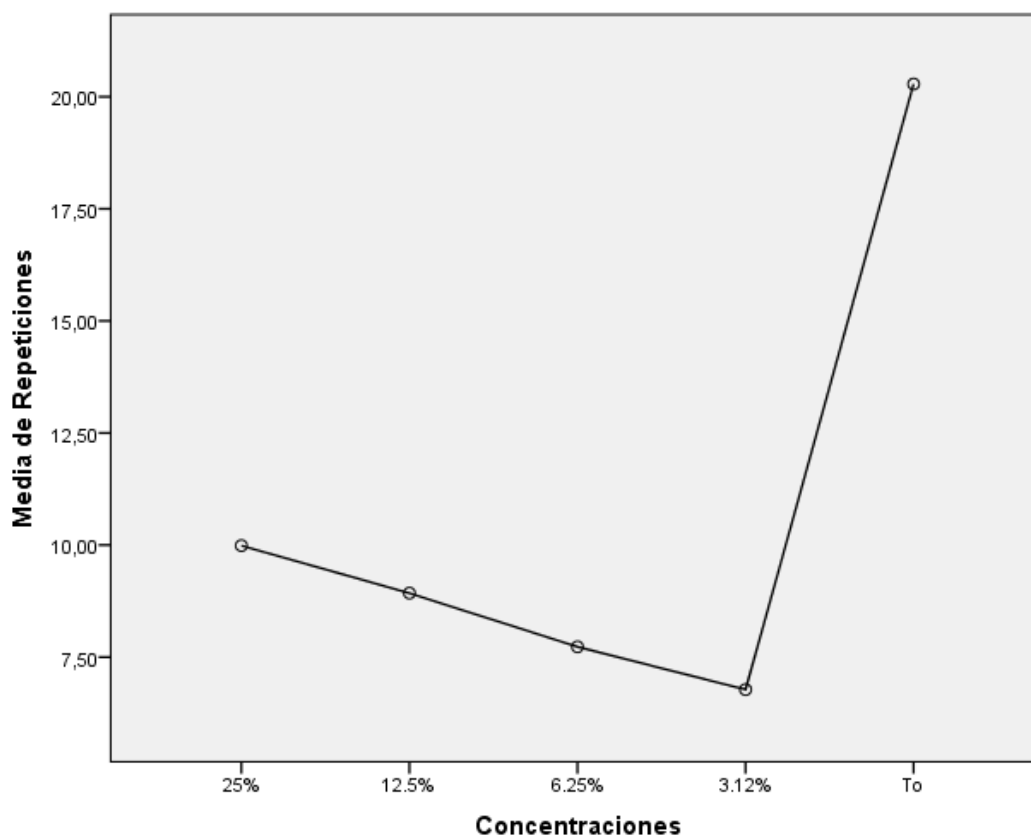
Ho: al menos uno de los tratamientos funciona diferente a los niveles de concentración de aceite.

Tabla 22

*A.E. Ocotea quixos contra Escherichia.coli*

Rangos	Media	Rp	Interpretación
U5 - U1	13,51	1,267	Significativa
U5 - U2	12,55	1,245	Significativa
U5 - U3	11,36	1,219	Significativa
U5 - U4	10,30	1,164	Significativa
U4 - U1	3,21	1,245	Significativa
U4 - U2	2,26	1,219	Significativa
U4 - U3	1,06	1,164	No significativa
U3 - U1	2,15	1,219	Significativa
U3 - U2	1,20	1,164	Significativa
U2 - U1	0,95	1,164	No significativa

*Fuente:* Autora



*Figura 8. A.E. Ocotea quixos contra Escherichia.coli*  
*Fuente: Autora*

Conclusión: apruebo la Ha parcialmente debido a que existen significancia entre casi todos los tratamientos; sin embargo, para el tratamiento 1 en comparación con el 2 no existe diferencia entre los rangos ellos y por otro lado no existe diferencia entre los rangos el tratamiento 3 comparado con el 4.

Tabla 23

*A.E. Ocotea quixos* contra *Streptococcus spp.*

Rango	Media	Rp	Interpretaciòn
U5 - U1	15,44	0,524	Significativa
U5 - U2	14,14	0,515	Significativa
U5 - U3	13,44	0,504	Significativa
U5 - U4	11,11	0,481	Significativa
U4 - U1	4,33	0,515	Significativa
U4 - U2	3,03	0,504	Significativa
U4 - U3	2,33	0,481	Significativa
U3 - U1	2,00	0,504	Significativa
U3 - U2	0,70	0,481	Significativa
U2 - U1	1,30	0,481	Significativa

Fuente: Autora

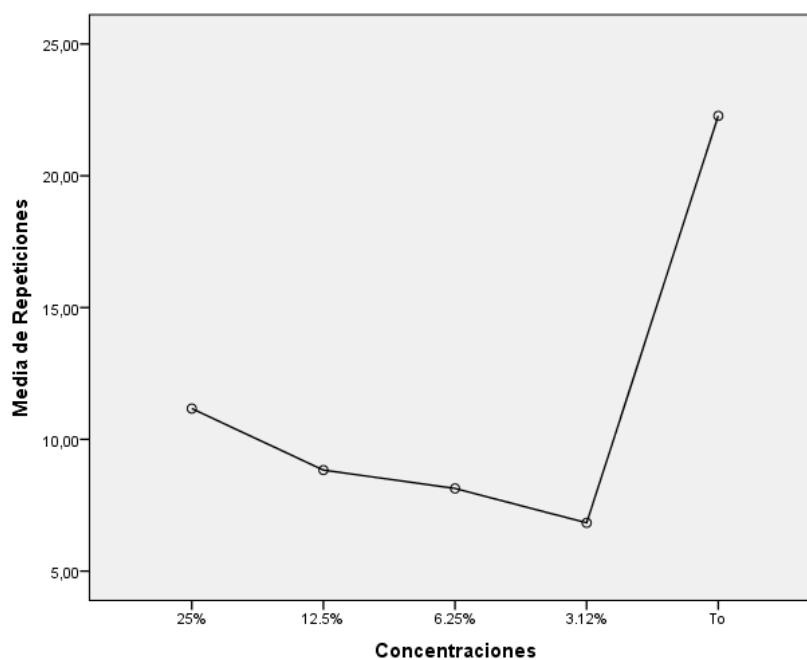


Figura 9. *A.E. Ocotea quixos* contra *Streptococcus spp*

Fuente: Autora

Conclusión: se aprueba la Ha debido a que todos los tratamientos funcionan a los diferentes niveles de concentración de aceite y demuestran su significancia entre ellos.

Tabla 24

*A.E. Cymbopogon citratus contra Escherichia.coli*

Rangos	Media	Rp	Interpretaciòn
U5 - U1	13,09	1,302	Significativa
U5 - U2	12,08	1,279	Significativa
U5 - U3	10,58	1,253	Significativa
U5 - U4	8,73	1,196	Significativa
U4 - U1	4,36	1,279	Significativa
U4 - U2	3,35	1,253	Significativa
U4 - U3	1,85	1,196	Significativa
U3 - U1	2,51	1,253	Significativa
U3 - U2	1,50	1,196	Significativa
U2 - U1	1,01	1,196	No significativa

Fuente: Autora

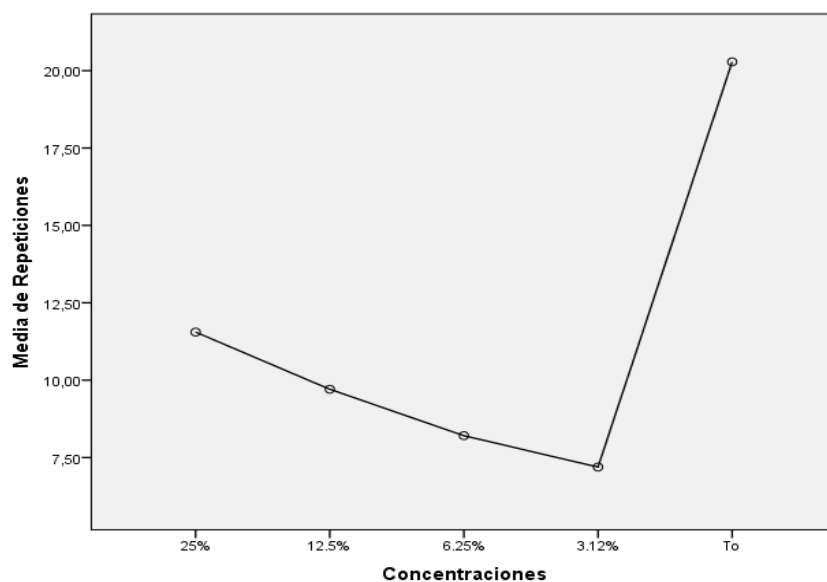


Figura 10. *A.E. Cymbopogon citratus contra Escherichia.coli*

Fuente: Autora

Conclusión: se aprueba la Ha parcialmente debido a que el tratamiento 3 con respecto al 4 no muestra significancia.

Tabla 25

*A.E. Cymbopogon citratus contra Streptococcus spp.*

Rang	Media	Rp	Interpretación
U5 - U1	15,28	0,213	Significativa
U5 - U2	14,17	0,209	Significativa
U5 - U3	11,97	0,205	Significativa
U5 - U4	9,39	0,195	Significativa
U4 - U1	5,89	0,209	Significativa
U4 - U2	4,78	0,205	Significativa
U4 - U3	2,59	0,195	Significativa
U3 - U1	3,30	0,205	Significativa
U3 - U2	2,19	0,195	Significativa
U2 - U1	1,11	0,195	Significativa

*Fuente: Autora*

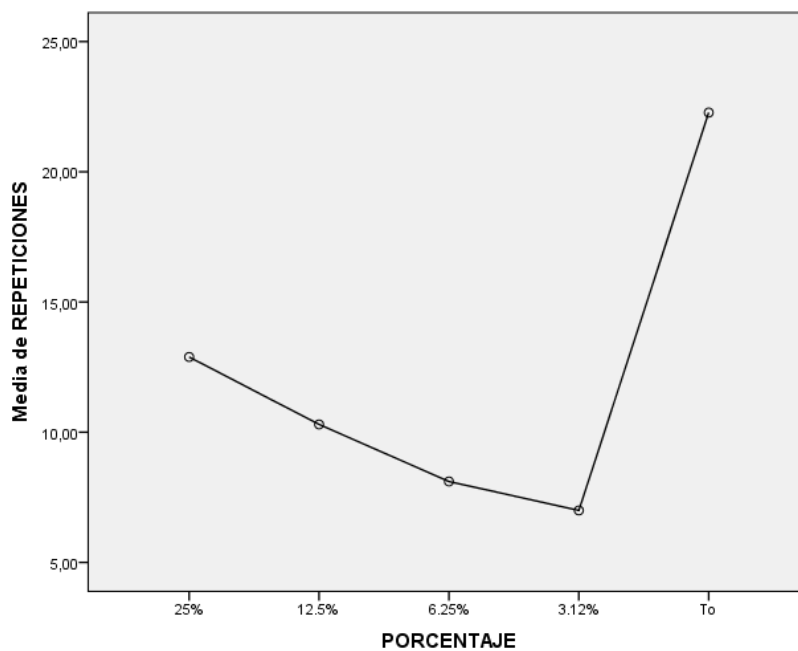


Figura 11. A.E. *Cymbopogon citratus* contra *Streptococcus* spp.

Conclusión: se aprueba la Ha debido a que existe significancia entre todos los tratamientos a los distintos porcentajes.

## 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 Conclusiones

- La recolección de las muestras mediante la técnica de hisopado se realizó de manera satisfactoria gracias al uso del medio de transporte Stuart, facilitando el transporte de las muestras dentro de la ciudad, cumpliendo con parámetros de calidad UNE-EN-ISO-556-1.
- De las 140 muestras analizadas se aisló dos tipos de microorganismos, una bacteria Gram negativa, *Escherichia coli* en 38 muestras y una bacteria Gram positiva, *Streptococcus* spp. en 12 muestras; no se logró identificar *Proteus mirabilis* en ninguna de las muestras.
- Los aceites esenciales de Ishpingo (*Ocotea quixos*) y Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) presentaron actividad antimicrobiana a todas las concentraciones evaluadas frente a las dos bacterias identificadas. Los aceites esenciales de *Ocotea quixos* y *Cymbopogon citratus* presentaron mejor comportamiento de inhibición al 25% frente a *Escherichia coli* y *Streptococcus* spp.
- El aceite esencial al 12.5 y al 25% de *Cymbopogon citratus* inhibió el crecimiento de las bacterias *Escherichia coli* y *Streptococcus* spp. obteniendo un porcentaje de inhibición bacteriana superior al 45%.

### 5.2 Recomendaciones

- Ampliar el campo de investigación de Odontología Veterinaria, debido a que es un tema muy poco abordado a nivel de clínica menor en animales.
- De acuerdo a los resultados de la investigación se considera realizar más estudios relacionados con la aplicabilidad de los aceites esenciales y su posible uso en la industria

farmacéutica alimenticia, con la finalidad de ser utilizados como alternativa a los conservantes convencionales.



## 6. BIBLIOGRAFÍA

Acheverreaga, B. (06 de Julio de 2018). [www.colibri.udelar.edu.uy](http://www.colibri.udelar.edu.uy). Obtenido de <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/19820/1/FV-29653.pdf>

Acheverreaga, F., & Burgueño, M. (2012). *colibri.udelar.edu.uy*. Obtenido de [colibri.udelar.edu.uy](http://colibri.udelar.edu.uy):

<https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/19820/1/FV-29653.pdf>

Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonosanitario. (2021). *www.aportecivico.gobiernoelectronico.gob.ec*. Obtenido de <https://aportecivico.gobiernoelectronico.gob.ec/system/documents/attachments/000/000/047/original/315735fa93f82ce721f70908338a6c6b59ac2ea5.pdf>

Anton, I., & Arriaga, A. (junio de 2020). Identificación microbiológica en enfermedades gingivalperiodontales en perros atendidos en consultorio veterinario el fortín. Guayaquil: Universidad de Guayaquil.

Avenza Maps. (17 de Febrero de 2023). Obtenido de [https://play.google.com/store/apps/details?id=com.Avenza&hl=es\\_EC&gl=US&pli=1](https://play.google.com/store/apps/details?id=com.Avenza&hl=es_EC&gl=US&pli=1)

Bagginis. (08 de Septiembre de 2014). *bagginis.blogspot.com*. Obtenido de <https://bagginis.blogspot.com/2014/09/las-enterobacterias-parte-6.html>

Benvenuto, V. (2017). *urp.edu.pe*. Obtenido de [urp.edu.pe](http://urp.edu.pe): [https://repositorio.urp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14138/1016/Benvenuto\\_vp.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.urp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14138/1016/Benvenuto_vp.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Bermúdez-Vásquez, M., Granados, F., & Molina, A. (2019). Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Psidium guajava* y *Cymbopogon citratus*. *Agron. Mesoam.*, 30(1), 147-163.

Bioser. (Septiembre de 2020). *www.bioser.com*. Obtenido de <https://www.bioser.com/productos/macconkey-sorbitol-ct-smac-agar-medio-base-131p/>

Bioser. (2020). *www.bioser.com*. Obtenido de <https://www.bioser.com/productos/eosin-methylene-blue-agar-emb-81p/>

Brook A, NiemiecDAVDC, DEVDC, FAVD, & Jerzy Gawor DAVDC. (20 de Junio de 2019). *wsava.org*. Obtenido de <https://wsava.org/wp-content/uploads/2020/01/WSAVA-Dental-Guidelines-Spanish.pdf>

Cabalé, B. T. (2019). Relación entre las enfermedades periodontales y sistémicas. *SciELO*.

Canet, J. (19 de Enero de 2016). Obtenido de <https://www.betelgeux.es/blog/2016/01/19/escherichia-coli-caracteristicas-patogenicidad-y-prevencion-i/>

Canet, J. (19 de Enero de 2016). *www.betergeux.es*. Obtenido de <https://www.betelgeux.es/blog/2016/01/19/escherichia-coli-caracteristicas-patogenicidad-y-prevencion-i/>

Cantón, R., & Sánchez, M. (05 de Octubre de 2010). *seimc.org*. Obtenido de <https://seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/Ppenneri.pdf>

- Cantón, S. M. (octubre de 2006). *www.seimc.org*. Obtenido de <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-proteus-penneri-13094272>
- Casetti, M. A. (01 de Enero de 2016). *www.repodigital.unrc.edu.a*. Obtenido de <https://www.repodigital.unrc.edu.ar/xmlui/handle/123456789/75215?show=full>
- Castillo, J. A. (27 de Marzo de 2017). “Efecto inhibitorio del aceite esencial de cymbobogon citratus en diferentes concentraciones sobre la cepa de porphyromona gingivalis atcc® 33277™ estudio in vitro”. Quito, Ecuador. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/9134/1/T-UCE-0015-521.pdf>
- Castro, S. (Julio de 2006). *www.scielo.org.a*. Obtenido de [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0325-75412006000300002#:~:text=El%20g%C3%A9nero%20Proteus%20fue%20identificado,casos%20agar%20TSI%3B%20desaminaci%C3%B3n%20de](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-75412006000300002#:~:text=El%20g%C3%A9nero%20Proteus%20fue%20identificado,casos%20agar%20TSI%3B%20desaminaci%C3%B3n%20de)
- Coronado, D. (1 de Febrero de 2019). EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DEL CYMBOPOGON CITRATUS “HIERBA LUISA” SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175. Perú.
- Corrales, L., Antolinez, D., Bohórquez, J., & Corredor, A. (2019). Identificación de microbiota bucal en caninos en estado de abandono. *Nova*, 17(32).
- Dalton, L. (12 de Noviembre de 2022). *laboratoriodalton.com*. Obtenido de <https://laboratoriodalton.com/2020/12/03/pruebas-bioquimicas-para-streptococcus/>

El Diario. ec. (2014). *www.eldiario.ec*. Obtenido de <https://www.eldiario.ec/noticias-manabi-ecuador/326952-los-poderes-curativos-de-la-hierbaluisa/>

Esquivel, N., & Reyes, K. (25 de Junio de 2014). Obtenido de [ri.uaemex.mx](http://ri.uaemex.mx):  
<http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/33408/KARINA%20Y%20NORMA%20TESIS%20PARA%20ENTREGAR.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Esquivel, N., & Reyes, K. (25 de JUNIO de 2014). <http://ri.uaemex.mx/>. Obtenido de  
<http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/33408/KARINA%20Y%20NORMA%20TESIS%20PARA%20ENTREGAR.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Fernández , A., García, C., Sáez, J., & Valdezate, S. (10 de Marzo de 2011). Obtenido de  
<https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>

Gacía. (3 de Marzo de 2021). Obtenido de <https://la-respuesta.com/blog/Que-contiene-el-medio-Stuart/>

Gallegos, M. (2016). Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. *SciELO*.

Gobierno del Ecuador. (15 de Junio de 2016). *www.pwiki.usfq.edu.ec*. Obtenido de  
[https://pwiki.usfq.edu.ec/mw36/index.php?title=Ishpingo\\_Amazon%C3%ADa](https://pwiki.usfq.edu.ec/mw36/index.php?title=Ishpingo_Amazon%C3%ADa)

Goulart, B., Duarte, R., de Albuquerque, G., Muñoz, A., Echeverría, J., Llaure, A., . . . Rocha, L. (2022, january). Essential oils from *Ocotea* species: Chemical variety, biological activities and geographic availability. *Fitoterapia*, 156.

Gregorio, M. (2021). *unrn.edu.ar*. Obtenido de *unrn.edu.ar*:  
<https://rid.unrn.edu.ar/bitstream/20.500.12049/7222/1/De%20Gregorio%2C%20Mariana%20-%20Periodontitis%20Canina.pdf>

Guerrero, T. e. (14 de Junio de 2012). *Proteus mirabilis* productor de AmpC plasmídica en el Área Sanitaria de Santiago de Compostela: prevalencia y caracterización molecular por rep-PCR y MALDI-TOF MS. Santiago de Compostela, Galicia, España. Obtenido de <https://seq.es/seq/0214-3429/25/2/trevino.pdf>

Hurtado CA, B. A. (2016). Bacterias asociadas a enfermedades periodontales. 54.

INSST. (06 de Abril de 2022). *www.insst.es*. Obtenido de <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/bacterias/streptococcus-spp>.

Jouppi, N. e. (30 de Enero de 2021). *www.wsava.org*. Obtenido de <https://www.wsava.org/wp-content/uploads/2021/02/WSAVA-Global-Dental-Guidelines-JSAPSpanish.pdf>

Logroño, J. (26 de Septiembre de 2021). *www.dspace.espace.edu.ec*. Obtenido de <http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/15546/1/27T00499.pdf>

Logroño, J. E. (2021). Ishpingo (Ocotea quixos) como fuente de aceite esencial para su uso en la industria alimentaria.

Lopez, E. (09 de Abril de 2018). *www.repositoriouta.edu.ec*. Obtenido de <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/27546/1/Tesis%20130%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20568.pdf>

Macas. (2021). Obtenido de <https://ec.craftslisting.com/index.php?page=item&id=104>

Maetahara R, A. P. (2010). Frecuencia y severidad de la enfermedad periodontal en pacientes caninos de una clínica de pequeños animales en Lima. *Revista de investigaciones Veterinarias del Perú.*, 21.

Martínez, A. (febrero de 2003). *www.med-informatica.com*. Obtenido de [https://www.med-informatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencialesUdeA\\_esencias2001b.pdf](https://www.med-informatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencialesUdeA_esencias2001b.pdf)

MCD LAB. (26 de Abril de 2021). Obtenido de <file:///C:/Users/LENOVO/Downloads/FT%20Medio%20de%20Transporte%20Stuart.pdf>

MDMADMIN. (19 de Octubre de 2017). *mdmcientifica.com*. Obtenido de <https://mdmcientifica.com/stuart-medio-de-transporte-microbiologico/#:~:text=El%20medio%20de%20Stuart%20permite,medio%20es%20que%20dificulta%20las>

mdmcientifica. (14 de Julio de 2021). Obtenido de <https://mdmcientifica.com/wp-content/uploads/2021/09/IS-26-MT-STUART.pdf>

Moovitapp. (1 de Octubre de 2021). *moovitapp.com*. Obtenido de [https://moovitapp.com/index/es-419/transporte\\_p%C3%BAblico-Universidad\\_Politecnica\\_Salesiana-Cuenca-stop\\_38018638-3813](https://moovitapp.com/index/es-419/transporte_p%C3%BAblico-Universidad_Politecnica_Salesiana-Cuenca-stop_38018638-3813)

Morillo, J. (Marzo de 2017). Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/9134/1/T-UCE-0015-521.pdf>

- Morillo, J. (2017). *ece.edu.ec*. Obtenido de *ece.edu.ec*:  
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/9134/1/T-UCE-0015-521.pdf>
- Omar Carrasco et. al, S. (29 de Marzo de 2016). *www.dspace.ups.edu.ec*. Obtenido de  
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/12140/1/UPS-QT09798.pdf>
- Ortega, A. (06 de Septiembre de 2018). *www.dspace.ups.edu.ec*. Obtenido de  
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16043/1/UPS-CT007779.pdf>
- Pérez, A. P. (20 de Junio de 2019). *www.wsava.org*. Obtenido de <https://wsava.org/wp-content/uploads/2020/01/WSAVA-Dental-Guidelines-Spanish.pdf>
- Pérez, S. (02 de Febrero de 2021). *www.repositoio.ug.edu.ec*. Obtenido de  
<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/51081/1/BINGQ-IQ-20P27.pdf>
- Poblete Perez, A. (19 de 06 de 2020). *wsava.org*. Obtenido de *wsava.org*: <https://wsava.org/wp-content/uploads/2020/01/WSAVA-Dental-Guidelines-Spanish.pdf>
- Predari, S. (06 de Septiembre de 2016). *aam.org*. doi:222
- Rodriguez, V. (Mayo de 2015). *www.scielo.edu.uy*. Obtenido de  
[http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1688-48092015000100004](http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-48092015000100004)
- Ruilova, B. M. (29 de Noviembre de 2022). *https://dspace.ups.edu.ec/*. Obtenido de  
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/23689/4/UPS-CT010161.pdf>

Sánchez, J., Alvarado, H., Quezada, L., & Medina, R. (2021). Repercusión clínica de la Periodontitis en caninos atendidos en San Juan, Los Ríos. *Revista Ecuatoriana de Ciencia Animal*, 5(1).

Shendurse, A. M., Shangwan, R. B., Kumar, A., Ramesh, V., Patel, A. C., Gopikrishna, G., & Roy, S. K. (2021). Phytochemical screening and antibacterial activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) leaves essential oil. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 10(2), 445-449.

Stapf, O. (1933). *www.tropicos.org*. Obtenido de <https://www.tropicos.org/name/25511805>

Subramaniam, G., Ying Yew, X., & Ambigai, L. (2020). Antibacterial activity of *Cymbopogon citratus* against clinically important bacteria. *South African Journal of Chemical Engineering*, 34, 26-30.

Tadich, N. (11 de Enero de 2023). *web.uchile.cl*. Obtenido de [https://web.uchile.cl/vignette/monografiasveterinaria/monografiasveterinaria.uchile.cl/CD/A/mon\\_vet\\_completa/0,1421,SCID%253D17783%2526ISID%253D426,00.html](https://web.uchile.cl/vignette/monografiasveterinaria/monografiasveterinaria.uchile.cl/CD/A/mon_vet_completa/0,1421,SCID%253D17783%2526ISID%253D426,00.html)

The Center for Food Security & Public Health. (03 de Abril de 2015). *The Center for Food Security & Public Health*. Obtenido de <https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/streptococcosis-es.pdf>

Toriggia, P. (2014). <http://repositorioubasibbi.uba.ar/>. Obtenido de <http://repositorioubasibbi.uba.ar/>:



[http://repositorioubi.sisbi.uba.ar/gsd/collect/avaposgra/index/assoc/HWA\\_1473.dir/1473.PDF](http://repositorioubi.sisbi.uba.ar/gsd/collect/avaposgra/index/assoc/HWA_1473.dir/1473.PDF)

Treviño, M., Navarro, D., Barbeito, G., Areses, P., García, C., & Regueiro, B. (14 de Junio de 2012). *seq.es*. Obtenido de *seq.es*: <https://seq.es/seq/0214-3429/25/2/trevino.pdf>

Tropicos.org. (s.f.). *Cymbopogon citratus (DC.) Stapf*. Obtenido de Missouri Botanical Garden: <https://www.tropicos.org/name/25511805>

Vargas, C. e. (2019). Identificación de microbiota bucal en caninos en estado de abandono. *SciELO*. Obtenido de [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1794-24702019000200039#:~:text=Seg%C3%BAAn%20la%20literatura%20y%20los,Porphyromonas%20endodontalis%20y%20Fusobacterium%20spp.](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702019000200039#:~:text=Seg%C3%BAAn%20la%20literatura%20y%20los,Porphyromonas%20endodontalis%20y%20Fusobacterium%20spp.)

Vazquez, M. (Octubre de 2022). *msdmanuals.com*. Obtenido de *msdmanuals.com*: <https://www.msdmanuals.com/es-mx/professional/enfermedades-infecciosas/diagn%C3%B3stico-de-laboratorio-de-las-enfermedades-infecciosas/pruebas-de-sensibilidad-o-antibiogramas>

Vazquez, M. (Octubre de 2022). *www.msdmanuals.com*. Obtenido de <https://www.msdmanuals.com/es-ec/professional/enfermedades-infecciosas/diagn%C3%B3stico-de-laboratorio-de-las-enfermedades-infecciosas/pruebas-de-sensibilidad-o-antibiogramas#:~:text=Las%20pruebas%20de%20sensibilidad%20o,para%20bacterias%20C%20hongos%20o%2>

Vega B, H. F. (2014). Determinación de la susceptibilidad antibiótica in vitro de bacterias subgingivales en caninos con enfermedad periodontal moderada a severa. *Revista de investigación veterinaria de Perú*, 77-78.

Villavicencio, e. a. (30 de Junio de 2021). Efecto antibacteriano in vitro de extractos de *Caesalpinia spinosa* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a antibióticos betalactámicos. Cuenca, Azuay, Ecuador.

Webster, P. (13 de Noviembre de 2021). DCA par . Cuenca.

Yepes, V. (27 de Abril de 2013). *victoryepes.blogs.upv.es*. Obtenido de <https://victoryepes.blogs.upv.es/2013/04/27/diseno-completamente-al-azar-y-anova/>

## ANEXOS

- Cuestionario de selección proceso de reclutamiento criterios de inclusión

Identificación de caninos con enfermedad periodontal							
Criterios de inclusión	Positivo	Nº de muestra	Nombre	Edad	Sexo		Peso
					Hembra	Macho	
Gingivitis							
Periodontitis temprana:							
Periodontitis moderada:							
Periodontitis avanzada:							

- **Evaluación Clínica**

### 1. Gingivitis

El margen de la encía adherida está inflamado

- Placa que cubre los  
dientes  
Se puede revertir
2. Periodontitis temprana: Encía adherida  
inflamada  
Presencia de dolor y  
el olor perceptible  
Ligera recesión  
gingival  
Poca evidencia de  
pérdida ósea  
Halitosis intensa  
Se puede revertir
- 3- Periodontitis moderada: Encías rojo cereza