

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN  
CRISTÓBAL DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA  
Y BIOQUÍMICA**



**Actividad antibacteriana del colutorio de extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* "sillkau" sobre bacterias orales. Ayacucho-2009.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**PRESENTADO POR:  
Bach. AGUSTÍN MULLISACA VEGA**

**AYACUCHO - PERÚ  
2012**

## **ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**

**R D N° 024-2012-FCB-D**

**Bach. Agustín Mullisaca Vega**

En la ciudad de Ayacucho siendo las cuatro de la tarde del día viernes veintitrés de marzo del año dos mil doce, en el auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas, bajo la presidencia del Doctor Tomas Castro Carranza en su condición de Decano de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga y con la asistencia de los docentes miembros: Magister Martha Romero Viacava, Magister Vidalina Andía Ayme; Magister José Alarcón Guerrero, actuando como secretaria docente la Magister Maricela López Sierralta, para administrar la sustentación de tesis titulado: Actividad antibacteriana del colutorio de extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* "Sillkau" sobre bacterias orales. Ayacucho 2009, presentado por el Bachiller Agustín Mullisaca Vega, quien pretende optar el título de profesional de Químico Farmacéutico.

El decano inicia el acto de sustentación y solicita a la secretaria docente la Revisión y Lectura de los documentos en Mesa, por lo cual se da lectura la Resolución Decanal N° 024-2012-2012-FCB-D de fecha veinte de marzo del dos mil doce, además se da a conocer el memorando s/n 2012, por el Mg Marco Aronés Jara (asesor) quien por motivos personales justifica su Inasistencia al acto de sustentación. Luego da instrucciones al sustentante en temas referido al tiempo de sustentación el cual debe ser un máximo de cuarenta y cinco minutos.

El sustentante inicia el acto de sustentación con ayuda de equipo audio visual para la proyección de diapositivas, exponiendo el trabajo de investigación en el tiempo correspondiente.

Luego se inició La segunda etapa en la cual los miembros del jurado calificador realizaron las observaciones y preguntas correspondientes.


En la tercera etapa el decano solicita al sustentante que abandone el auditorio para que el jurado calificador pueda deliberar y emitir la evaluación correspondiente como sigue:

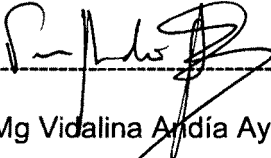
Jurado Calificador	Exposición	Respuesta a Preguntas	Promedio
Mg. Martha Romero Viacava	17	15	16
Mg. Vidalina Andía Ayme	15	15	15
Mg. José Alarcón Guerrero	15	13	14


Promedio: 15


De la evaluación correspondiente el sustentante obtuvo La nota promedio de QUINCE (15) de la cual dan fe los miembros estampando su firma al pie de la presente.  
Concluye el acto de sustentación siendo las seis de la noche.

  
-----  
Dr. Tomas Castro Carranza  
Decano-Presidente

  
-----  
Mg Martha Romero Viacava  
Miembro

  
-----  
Mg Vidalina Andía Ayme  
Miembro

  
-----  
Mg José Alarcón Guerrero  
Miembro-4º Jurado Calificador

  
-----  
Mg Maricela López Sierralta  
Secretaria Docente

**DEDICATORIA**

A mi madre María y a mi hija Tatiana

## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, alma máter de nuestra formación profesional.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica por acogerme en sus aulas y a los profesores quienes con su esfuerzo hicieron posible mi formación profesional.

Al Mg. Marco Rolando Aronés Jara por su valioso asesoramiento y apoyo en la realización del presente trabajo de investigación.

A todas las personas que me brindaron su apoyo, sugerencias y consejos en la ejecución del presente trabajo.

## ÍNDICE GENERAL

	Páginas
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	vii
RESUMEN	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. <i>Bidens pilosa</i> L. "sillkau"	6
2.2.1. Aspectos botánicos	6
2.3. Vancomicina	10
2.4. Ecología de la boca	11
2.5. Saliva	12
2.6. Caries	12
2.7. Colutorio	14
III. MATERIALES Y MÉTODOS	16
3.1. Ubicación	16
3.2. Población y muestra	16
3.2.1. Población	16
3.3.1. Diseño experimental	17
3.3.5. Actividad antibacteriana	19
3.4. Análisis de datos	22
III. RESULTADOS	23
IV. DISCUSION	28
V. CONCLUSIONES	33
VII. RECOMENDACIONES	34
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
ANEXOS	39

## ÍNDICE DE TABLAS

		Página
Tabla 1	Metabolitos secundarios del extracto etanólico de <i>Bidens pilosa</i> L	24
Tabla 2	Halos de inhibición del colutorio sobre bacterias orales.	44
Tabla 3	Análisis de varianza de los halos de inhibición sobre bacterias orales	45
Tabla 4	Halos de inhibición del colutorio sobre <i>streptococcus mutans</i>	46
Tabla 5	Análisis de varianza de los halos de inhibición sobre <i>streptococcus mutans</i>	47
Tabla 6	Halos de inhibición de cinco concentraciones del colutorio sobre bacterias orales	48

## INDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Promedios de halos de inhibición de tres concentraciones sobre <i>Streptococcus mutans</i>	25
Figura 2	Promedios de halos de inhibición de tres concentraciones sobre bacterias orales	26
Figura 3	Promedios de halos de inhibición de cinco concentraciones sobre bacterias orales	27



## ÍNDICE DE ANEXOS

		Página
Anexo 1	Planta <i>Bidens pilosa</i> L “sillkau”	40
Anexo 2	Certificado de identificación botánica	41
Anexo 3	Flujo grama diseño obtención de metabolitos secundarios	42
Anexo 4	Flujo grama diseño actividad antibacteriana	43
Anexo 10	Extracción, filtración y secado del extracto etanólico de hojas de <i>Bidens pilosa</i> L “sillkau”	49
Anexo 11	Toma de muestra salivales, aislamiento y reactivación de bacterias orales	50
Anexo 12	Tres concentraciones del colutorio a base de extracto etanólico de hojas de <i>bidens pilosa</i> “sillkau”	51
Anexo 13	Dilución del agar y preparación de placas petri	52
Anexo 14	Resultados de halos de inhibición	53
Anexo 15	Matriz de consistencia	54

## RESUMEN

El departamento de Ayacucho presenta una prevalencia de 99,8 por ciento de niños con caries.<sup>1</sup> La planta *Bidens pilosa* L conocida en nuestra localidad como "sillkau" posee diversos usos, entre la que destaca su propiedad antibacteriana.<sup>2</sup> Los objetivos de este trabajo fueron: Determinar los metabolitos secundarios presentes en las hojas de *Bidens pilosa* "sillkau", Evaluar la actividad antibacteriana del colutorio de extracto etanólico de las hojas de la planta sobre bacterias orales y Determinar la concentración eficaz antibacteriana del colutorio de extracto etanólico de hojas de la planta sobre bacterias orales; se realizó un estudio descriptivo ejecutado en los laboratorios de microbiología de la facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga ubicado a 2700 m.s.n.m.

En el extracto etanólico se encontró: alcaloides, flavonoides, esteroides y triterpenoides, lactonas, taninos, saponinas, aceites y resinas. Para determinar la actividad antibacteriana del colutorio sobre bacterias orales se tomó muestras salivales sin tratamiento de escolares de ambos sexos entre 7 a 12 años de edad, del colegio Señor de Agonía Ayacucho, a quienes se les hizo un raspado con hisopo estéril, estas muestras se reactivaron con dos tipos de agar (agar Trypticase de soya para bacterias orales,<sup>3</sup> agar mitis salivarius con 10 mg/ml de cloranfenicol, en un ambiente de 5 por ciento de CO<sub>2</sub> para *Streptococcus mutans*<sup>4</sup>). Del tubo que contenía el hisopo raspado con muestra salival se cogió un mililitro y se trasladó al tubo con suero fisiológico procediéndose a realizar diluciones seriada hasta 10<sup>-6</sup>. Del tubo de dilución 10<sup>-5</sup> y 10<sup>-6</sup>, respectivamente, se procedió a sembrar. Luego se introdujo cuatro discos estériles sobre la cual se añadió 0,04 ml de diferentes concentraciones de solución problema. (luego de incubarse a 37 °C por 24 horas se obtuvo halos de inhibición desde 7.8 mm, 8.7 mm y 15.8 mm frente a *Streptococcus mutans* y de 8.0 mm, 10.1 mm y 15.1mm frente a bacteria orales y para el estándar se obtuvo 17 mm, estos datos fueron procesados mediante la prueba estadística de ANVA y tukey, llegándose a la conclusión que el colutorio de extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* "silkau" tiene actividad antibacteriana sobre bacterias orales.

Palabra clave: *Bidens pilosa* L, colutorio, ecología de la boca, bacterias orales.

## I. INTRODUCCIÓN

La ciencia farmacéutica, actualmente, pone especial énfasis en el descubrimiento de nuevas moléculas (naturales, sintéticas o semisintéticas) con actividad antibacteriana, pues preocupa la aparición, cada vez más frecuente, de resistencia bacteriana a los antibióticos tradicionales. La resistencia a múltiples sustancias hoy día es un problema de salud pública que se viene observando a nivel mundial después de la aparición de los antibióticos.<sup>5</sup>

Las enfermedades de la cavidad bucal constituyen un grave problema de salud pública en el Perú por ser la segunda causa de morbilidad en la consulta externa a nivel nacional, están presentes en todas las etapas de vida de las personas, alteran y deterioran el estado nutricional, la salud general, la autoestima, la calidad de vida y el desarrollo humano. Su atención genera altos costos a las familias y al Estado. El Ministerio de Salud del Perú realizó un estudio epidemiológico de prevalencia de caries dental, fluorosis del esmalte y urgencia de tratamiento en población escolar de 6 a 8, 10, 12 y 15 años a nivel del país, en el período comprendido entre octubre del 2001 y julio del 2002. Los resultados mostraron como promedio 90 por ciento de prevalencia de caries dental en la población escolar. Los departamentos con mayores prevalencias fueron Ayacucho (99,8 por ciento), Ica (98,8 por ciento), Huancavelica (98,3 por ciento) y Cusco (97,2 por ciento).<sup>6</sup> La planta *Bidens pilosa* L. es conocida en nuestra localidad como "sillkau", de ella se refieren varias propiedades curativas

según la medicina popular. En la comunidad de Cuchicancha, distrito de Acocro, la decocción de las hojas y tallo lo usan como estimulante del parto y para los descensos; también se utiliza toda la planta, como agua de tiempo, para tratar las infecciones urinarias. En la comunidad de Occopa, distrito de Pacaycasa, el jugo de las hojas se usa para tratar la conjuntivitis aplicando una gota sobre el ojo afectado, las hojas de la planta preparada como agua de tiempo sirve para aliviar los cólicos menstruales. En Occollo, distrito de Vinchos, los pobladores refieren que toman como agua de tiempo las hojas de *Salvia officinalis* "salvia" con hojas de *Bidens pilosa* L "sillkau" para tratar malestares renales. En Patacangallo, distrito de Cangallo, se mastica las hojas de "sillkau" para quitar el mal aliento.

Conocedores que la prevalencia de caries en nuestra región presenta índices preocupantes, lo que demanda atención inmediata a este problema; esto motivó para estudiar la planta *Bidens pilosa* L "sillkau", como recurso natural de nuestra región, por sus múltiples propiedades, principalmente antiinfecciosas. Nos planteamos los siguientes objetivos:

Objetivo general.

- Evaluar la actividad antibacteriana del colutorio de extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* L "sillkau" sobre bacterias orales.

Objetivo específico.

- Determinar los metabolitos secundarios presentes en las hojas de *Bidens pilosa* L "sillkau".
- Determinar la concentración eficaz antibacteriana del colutorio de extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* L "sillkau" sobre bacterias orales.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes

La teoría ácida de la caries establecida por Magitot de manera empírica y no por eso menos acertada a mediados del siglo XIX, había llevado a la producción de compuestos alcalinos, añadiendo antiácidos a dentífricos y colutorios.

A principios del siglo XX Miller introduce su antiséptico en forma de ácido benzoico. Propone una receta de elixer compuesta de ácido benzoico, tintura de ratania, alcohol, aceite y esencia de menta. El alcohol contenido en las distintas formulaciones no era considerada como parte activa del preparado, siendo su única finalidad vehiculizar la solución. Así, en los años veinte, se aceptaba mundialmente que el alcohol era el mejor excipiente en los elixeres. A mediados del siglo se enfoca la prevención de caries y enfermedad periodontal desde la eliminación de la placa del mayor número de superficies de la boca siendo los colutorios un complemento a un inadecuado control de placa.<sup>7</sup>

En una investigación sobre bacterias orales, se determinó el efecto antibacteriano *in vitro* de soluciones de *Camelia sinensis* "té verde", para tal efecto recolectaron saliva de 40 estudiantes universitarios y sembraron en un medio de Agar *Trypticase Soja*. Utilizaron el método de difusión por discos de soluciones de té con controles positivos (Amoxicilina) y negativo (agua destilada), encontrando actividad antibacteriana contra cepas de *Streptococcus*.

*mutans* y también sobre bacterias orales.<sup>8</sup>

El estudio *in vivo* del efecto antimicrobiano de la infusión de *Camelia sinensis* "té verde" en forma de colutorio al 10 por ciento con 32 personas aparentemente sanas, antes del enjuague, inmediatamente después y 30 minutos después del enjuague, sembrándose en Agar *Trypticase Soja* y Agar *Mitis salivarius* bacitracina; en el recuento de unidades formadoras de colonias de *Streptococcus mutans* y las bacterias orales mostraron valores muy bajos concluyendo que posee actividad antibacteriana.<sup>9</sup>

Otro estudio sobre efecto de la infusión del té verde al 10 por ciento sobre la placa bacteriana formada por *Streptococcus mutans* ATCC 25175 sobre alambre de *nichrone*, usando el método de cultivos sucesivos cada 24 horas, por siete días, en caldo sacarosa al 5 por ciento. Los resultados mostraron una disminución de la adherencia en la formación de la placa de los cultivos tratados con *Camelia sinensis* "té verde".<sup>10</sup>

La evaluación de la acción antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* "muña" en cepas de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus sp.*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus* y *Actinomyces sp* usando como estándar Amoxicilina, demostró que el aceite *Minthostachys mollis* "muña" posee efectos antimicrobianos sobre bacterias orales.<sup>11</sup>

La investigación de la actividad antibacteriana de *Minthostachys verticillata* "Piperina" contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* y antiviral contra el virus *Herpes Simplex* Tipo 1 y el virus de la Pseudorrabia, demostró efecto antibacteriano y antiviral frente a dichas cepas.<sup>12</sup>

En un análisis de productos naturales de propóleo, *Erythroxylum novogranatense* "coca", *Croton lecheri* "sangre de grado", *Camelia sinensis* "té verde", y *Minthostachys mollis* "muña" demostró que estos productos tienen comportamiento antimicrobiano, produciendo halo de inhibición frente a la flora

bucal luego de un simple hervido, simple infusión o un proceso de extracción química.<sup>13</sup>

Un estudio informó que los aceites esenciales y los extractos de hoja y flor de *Bidens pilosa* L podría suprimir el crecimiento de bacterias gram-positivas y gram-negativas.<sup>14</sup>

Los extractos acuosos de *Bidens pilosa* L., *Jacaranda mimosifolia* D. Don y *Piper pulchrum* C. DC mostraron una mayor actividad contra *Bacillus cereus* y *Escherichia coli* que el sulfato de gentamicina. Del mismo modo, los extractos de etanol de todas las especies fueron activos frente a *Staphylococcus aureus* a excepción de *Justicia secunda*, además, *Bixa orellana*, *justicia secunda* Vahl. y *Piper pulchrum* C. DC presentó menor CIM contra *Escherichia coli* (0,8, 0,6 y 0,6 g / ml, respectivamente) en comparación con el sulfato de gentamicina (0,9, 0, 8 g / ml). Del mismo modo, *Justicia secunda* y *Piper pulchrum* C. DC mostraron una CIM análoga contra *Cándida albicans* (0,5 y 0,6 g / ml, respectivamente) en comparación a la nistatina (0,6 g / ml). *Bixa orellana* L, exhibió una mejor CIM frente a *Bacillus cereus* (0,2 g / ml) que el sulfato de gentamicina (0,5 mg / ml).<sup>15</sup>

El estudio de la densidad poblacional de *Streptococcus mutans* en la saliva de los escolares del Asentamiento Humano Madre Covadonga del distrito de Ayacucho encontró que todos los niños estaban contaminados con esta bacteria.<sup>4</sup>

*Bidens pilosa* L. es una especie que se produce ampliamente en las regiones tropicales y es conocido en Brasil como "*Picão-preto*". Cuatro agentes de la Pastoral de la Salud identificaron en la región de Criciúma, Estado de Santa Catarina, por su conocimiento popular de *Bidens pilosa* L. El estudio fue realizado por medio de entrevistas que proporcionaron datos sobre el conocimiento de "*Picã-opreto*", manipulación, parte de la planta utilizada, la planta, proporción de disolvente, métodos de preparación, la vía de

administración, dosis, indicaciones y restricciones. La forma farmacéutica, así como la posología, fue variable significativamente. El análisis de los datos recogidos mostró acción anti-inflamatoria como la principal indicación terapéutica.<sup>16</sup>

## **2.2. *Bidens pilosa* L “sillkau”**

### **2.2.1 Aspectos botánicos**

#### **2.2.1.1 Clasificación sistemática**

DIVISIÓN	: MAGNOLIOPHYTA
CLASE	: MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE	: ASTERIDAE
ORDEN	: ASTERALES
FAMILIA	: ASTERACEAE
GÉNERO	: <i>Bidens</i>
ESPECIE	: <i>Bidens pilosa</i> L
NOMBRE VULGAR	: “sillkau”.

Fuente: certificado expedido por el jefe del Herbarium Huamangensis de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (anexo 2)

#### **2.2.1.2. Descripción botánica y usos medicinales.**

Otras descripciones lo caracterizan como hierba erecta de un metro de alto, tallo angulado. Hojas compuesta pinnada, 3-5 foliada aserrada, agudos en el ápice, obtusos en la base, 5,0 cm de largo y 1,5 cm de ancho. Inflorescencia de pocas cabezuelas terminales, cada cabezuela d hasta 1,5 cm de largo. Flores amarillas, liguladas ausentes. Fruto aquenio linear, el pappus reducida a tres cerdas puntiagudas.<sup>17</sup> Los estudios realizados en Cuba sobre la planta *Bidens pilosa* L. concluyen que el uso de la droga seca ha sido estandarizado según



normas internacionales siendo fuente de materia prima para la industria farmacéutica. Así también, los extractos de *Bidens pilosa* L tanto de las hojas, como de tallos y raíces poseen una amplia gama de acción farmacológica: anti ulcerosa, antimicrobiana, hipoglucemiante y anti fúngica, demostrando su alta potencialidad fitoterapéutica. Los estudios químicos realizados tanto a la droga como a los extractos demuestra que presenta : taninos, esteroles y esteroides, flavonoides, glucósidos aurona y chalcona, polisacáridos, además de alcaloides entre otros, estos estudios han sido realizados recientemente por lo que no se descarta la identificación de otras moléculas en su composición.<sup>18</sup>

El extracto de la planta entera de *Bidens pilosa* L con jugo de naranja en ayunas se utiliza como diurético y calmante de los nervios.<sup>19</sup>

Los aceites esenciales de las hojas frescas y flores de *Bidens pilosa* L se analizaron por cromatografía; 44 componentes fueron identificados de los cuales el beta cariofilena y t-cadideno fueron los principales compuestos en las hojas y flores respectivamente. Los aceites y los extractos acuosos de hojas y flores se sometió a prueba antioxidante frente 2,2-difenil-1-picrilhidrazil encontrándose que el aceite tiene mejor efecto antioxidante que la de los extractos acuosos. También demostró que el aceite de las hojas y flores de *Bidens pilosa* L ejercen importante actividad antibacteriana frente a bacterias gram-positiva y gram-negativa teniendo mejor efecto en las gram- negativas.<sup>20</sup>

La administración del extracto acuoso de *Bidens pilosa* L sobre ratones durante 28 días, encontró que disminuyó significativamente los niveles de glucosa en la sangre y el aumento de los niveles séricos de insulina en los ratones; además la tolerancia a la glucosa mejoró. Así el extracto acuoso de *Bidens pilosa* L estimula la secreción de insulina en diabéticos tipo II en ratones.<sup>21</sup> La planta *Bidens pilosa* L posee aceites esenciales, fitoesteroles, taninos tipo catecol,

polisacáridos, flavonoides, aminas, mucílagos, terpenos, compuestos poliacetilenicos, glucósidos friedelina.<sup>22</sup>

El estudio de compuestos fenólicos de la fracción metanólica de *Bidens pilosa* L, sobre la neoplasia gástrica inducida en ratas, encontró que los flavonoides, compuestos fenólicos y taninos se hallan en mayor proporción y que además la fracción rica en compuestos fenólicos de *Bidens pilosa* L posee efecto quimioprotector deteniendo el avance de la neoplasia gástrica inducido con N-nitroso-N-metilurea sobre ratas albinas holtzman.<sup>23</sup>

El estudio de la histología vegetal y la influencia del extracto etanólico de la planta entera de *Bidens pilosa* L sobre el cáncer de colon inducido con 1,2-dimetilhidrazina sobre ratas Holtzman, demostró que tiene efecto citoprotector, además se encontró que las ratas tratadas con los flavonoides y los compuestos fenólicos inhiben el estrés oxidativo celular y también inhiben el crecimiento de tumores en el colon.<sup>24</sup>

El efecto quimioprotector de los compuestos fenólicos y flavonoides extraídos de la planta entera de *Bidens pilosa* L sobre el cáncer de mama inducido en ratas con 7,12-dimetilbenzeno antraceno logró la disminución del desarrollo de adenocarcinoma mamario obteniéndose mejor resultado con la fracción metanólica; el marcador de estrés oxidativo disminuyó en los grupos que recibieron tratamiento con el extracto de la planta, siendo significativo con la fracción metanólica; hubo menor número de micronúcleos (genotoxicidad) en los animales que recibieron tratamiento.<sup>25</sup>

En otro estudio sobre actividad anti fúngica contra *Cándida albicans* y *aspergillus niger* de diez plantas medicinales de tres departamentos del Perú, demostró que la planta *Bidens pilosa* L tiene actividad antimicótica frente a ambas cepas de hongos.<sup>26</sup> El extracto atomizado de *Bidens pilosa* L "sillkau"

tiene actividad diurética en cobayos encontrándose que a la concentración de 450 mg/kg produce diuresis significativa.<sup>27</sup>

El estudio fitoquímico y su utilización en medicina tradicional de *Bidens pilosa* L "sillkau" encontró que esta planta tiene diversos usos en nuestra región por sus propiedades curativas, además, demostró su actividad antibacteriano contra *Staphilococcus aureus*, asimismo, posee propiedades diuréticas, también el jugo de las hojas del "sillkau" son útiles para tratar la conjuntivitis.<sup>28</sup>

El *screening* farmacognóstico de *Bidens pilosa* L. identificó: azúcares reductores, mucilagos, pectinas, taninos, compuestos fenólicos, flavónicos, esteroides, lactonas sesquiterpénicas y aceites esenciales. Además posee actividad anti ulcerosa en ratas albinas, asimismo la determinación de DL 50 son no toxicas en 7,454 mg/kg.<sup>29</sup>

La evaluación de los componentes fitoquímicos de tallos y hojas de *Bidens pilosa* L "sillkau", demostró la presencia de: alcaloides, glucósidos, taninos, camarinas y flavonoides, además las hojas posee actividad cicatrizante en ratones albinos.<sup>30</sup>

La proyección de diferentes extractos y fracciones de la planta de *Bidens pilosa* L realizado mediante ensayo el in - vitro para el cáncer y la acción antipirética, se hizo con modelos in vivo. El extracto de la planta entera se extrajo con n - hexano, cloroformo y el extracto de metanol (E1, E2, E3). Los extractos se fraccionaron por el método de cromatografía en columna y fraccionados con acetato de etilo, acetona y agua (F1, F2, F3). Todos los extractos y las fracciones se ensayaron para la actividad contra el cáncer y antipirético. El extracto E1 muestra una notable actividad contra el cáncer y E3 tiene máxima actividad antipirética. En la actividad antipirética se utiliza como el paracetamol como estándar. El material más prometedor (DL 50 <1,500 g / mi) fue F1 fracción de acetato de etilo, del extracto metanólico y extracto crudo metanólico de la

planta entera. Sin embargo, se observó poca correlación en el grado de actividad antipirética entre el fármaco de ensayo y el fármaco estándar. En conclusión, el extracto obtenido a partir de la planta entera de *Bidens pilosa* L. mostró un efecto citotóxico significativo del extracto metanólico *in vitro* y mostró un efecto comparable a la actividad antipirética del paracetamol en la prueba de pirógenos en conejos.<sup>31</sup>

Los compuestos fenólicos son hidrosolubles que tienen un peso molecular comprendido entre 500 y 300 g/mol, presentan junto a la reacción clásica de los fenoles la propiedad de precipitar alcaloides, gelatina y otras proteínas.<sup>32</sup>

### 2.3. Vancomicina

La vancomicina es un antibiótico glucopéptido, obtenido del *Streptomyces orientalis* en 1956. Por la aparición de *Staphylococcus áureos* resistentes a dicloxacilina su importancia ha aumentado. Actualmente se ha detectado mayor incidencia de infecciones estafilocócicas, que son gérmenes coagulasa-positivos (*Staphylococcus aureus*) como por estafilococos coagulasa negativos (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus hominis*, etc.), estos microorganismos son poco sensibles a otros grupos de antibióticos.<sup>33</sup>

Los *Streptococcus* colonizan la bucofaringeo, el aparato gastrointestinal y el aparato genitourinario. Rara vez se encuentra en la superficie cutánea, pues los ácidos grasos presentes en la misma son tóxicos para ellos. Aunque pueden producir diversas infecciones. Se asocian con una mayor frecuencia a las caries dentales, la endocarditis aguda y sub-aguda y las infecciones supurativas, intraabdominales. Así mismo, debido a la aparición de resistencia, el uso de antibióticos alternativos como la vancomicina es recomendable.<sup>34</sup>

La vancomicina inhibe la síntesis del peptidoglucano en un paso previo al de los b-lactámicos. Evitan el proceso de polimerización necesario para que el complejo

disacárido-pentapéptido se separe del fosfolípido de la membrana. Como consecuencia se acumula el intermedio lipídico unido a la membrana citoplasmática de la bacteria. Al parecer, para inhibir la síntesis de la pared bacteriana, la vancomicina forma complejos con las cadenas de péptidos que contienen D-alanil-D-alanina, evitando de esta forma la acción enzimática necesaria para que ocurra la polimerización. Además, la vancomicina altera la permeabilidad de la membrana e inhibe la síntesis de ARN.<sup>35</sup>

#### **2.4. Ecología de la boca**

En el útero el feto se encuentra libre de microorganismos, luego del nacimiento hasta las primeras ocho horas la boca permanece estéril. La boca del niño recién nacido se contamina con microorganismos transitorios a partir de la vagina y del medio ambiente. Pueden aislarse varias especies de estreptococos y estafilococos, junto con coliformes, lactobacilos, especies Bacilos, especies *Neisseria* y levaduras. La selectividad de la boca como un entorno se demuestra aún en este momento, ya que la mayor parte de los microorganismos introducidos no pueden establecerse. La especie más común en los recién nacidos, es el *Streptococcus salivarius*, *Staphylococcus salbus*, *Neisseria* y *Veillonella*. También, *Cándida albicans* se replica con rapidez en la boca y el descenso del pH impide el crecimiento normal de otros comensales.

El predominio estreptocócico bordea los 98 por ciento y que este luego desciende al 70 por ciento después del primer año.<sup>36</sup> La erupción del diente produce cambios importantes en la ecología de la cavidad oral. Aparece la superficie lisa con zonas interproximales surco gingival etc. Entonces la microbiota comienza a aparecerse a la del adulto. El lactante se pone en contacto con una variedad de microorganismos. Los microorganismos de otras partes del cuerpo y los del ambiente, pueden existir también en la cavidad bucal y otros se quedarán ahí. La erupción de los dientes temporales proporciona una

superficie diferente para la adherencia microbiana y esto se caracteriza con la aparición del *Streptococcus sanguis* y *Streptococcus mutans* como habitantes comunes de la cavidad bucal. Al aumentar el número de dientes y los cambios en la alimentación se modificarán la población de los microorganismos. Unos cuantos anaerobios llegan a establecerse pero, como el surco gingival no es profundo, su número es pequeño. Comúnmente se encuentran actinomicetos, *Lactobacillus* y *Rothia*. Los hábitos dietéticos, la higiene, las anomalías del tejido duro o blando, los cambios hormonales, la administración de fármacos por vía general, local, son algunos de los factores que influyen en esta etapa.<sup>37</sup>

## **2.5. La saliva**

La saliva es una sustancia líquida transparente, de viscosidad variable, compuesta principalmente por agua, sales minerales y algunas proteínas, producida en la boca por las glándulas salivales. Las más relevantes son la glándula parótida, la submaxilar y la sublingual, pues aportan la mayor parte de la saliva. Se estima que la producción es de entre 1 y 1.5 litros de saliva al día, estando relacionada con el ciclo circadiano, de tal manera que por la noche se segrega una mínima cantidad de saliva; además, su composición varía en función de los estímulos (como el olor o la visión de la comida) aumentando -por ejemplo- el pH ante estos estímulos (cuando en condiciones normales es de 6,5 a 7,5).<sup>38</sup>

## **2.6. La caries**

Actualmente, se sabe que la caries corresponde a una enfermedad infecciosa, transmisible, producida por la concurrencia de bacterias específicas, un huésped cuya resistencia es menos que óptima y un ambiente adecuado, como es la cavidad oral. La conjunción de estos factores favorece la acidificación local del medio, lo que produce degradación de los hidratos de carbono de la dieta, a su vez seguida de la destrucción progresiva del material mineralizado y proteico del

diente. A menos que este proceso sea detenido con una terapia específica, puede llevar a la pérdida total de la corona dentaria. La presencia de microorganismos capaces de producir ácido suficiente para descalcificar la estructura del diente es necesaria para este proceso. En los últimos años se ha implicado al *Streptococcus mutans* como el principal y más virulento microorganismo responsable de la caries dental. Existen otros microorganismos como el *Lactobacillus*, *Actinomyces* y *Streptococcus* que también participan, pero su rol es de menor importancia.<sup>39</sup> La caries dental es una enfermedad crónica, infecciosa y multifactorial transmisible, muy prevalente durante la infancia, constituye por su magnitud y trascendencia un importante problema de salud pública, suele aparecer en los niños y en los adultos jóvenes, pero puede afectar a cualquier persona y son la causa más importante de pérdida de los dientes en las personas más jóvenes. Se ha implicado a dos bacterias en la caries dental: *Streptococcus sobrinus* y *Streptococcus mutans*, ambos son bacterias que producen ácido láctico. El *Streptococcus sobrinus* puede colonizar las superficies lisas del diente debido a su afinidad específica con las glicoproteínas salivales y es probable que este organismo sea el primer implicado en la afectación de las superficies lisas. El *Streptococcus mutans* se halla principalmente en las hendiduras y pequeñas fisuras, y su capacidad para fijarse a ambas superficies es resultado de una producción de polisacárido de dextrano únicamente cuando existe sacarosa, mediante la enzima dextrasacaridasa.<sup>40</sup> El esmalte que cubre los dientes contiene hidroxiapatito, un hidroxifosfato de calcio. Este mineral poco soluble se disuelve en ácido. Las bacterias al adherirse a los dientes causan caries debido al ácido láctico que producen al metabolizar los azúcares; entonces disminuyendo el pH en la superficie de los diente a menos de 5 de pH ocasionando que el hidroxiapatito se disuelva apareciendo la caries.<sup>41</sup>

## 2.7. Colutorio

Los colutorios son preparaciones líquidas destinadas a ser aplicadas sobre los dientes y las mucosas de la cavidad oral y faringe con el fin de ejercer una acción local antiséptica, astringente o calmante. El vehículo más comúnmente utilizado en los colutorios es el agua y los principios activos son numerosos, principalmente, antisépticos, antibióticos, anti fúngicos, astringentes y antiinflamatorios. Dependiendo de su composición y de los efectos deseados, los colutorios pueden considerarse cosméticos para la higiene bucal, que precisan un registro industrial o productos que necesitan un registro farmacéutico de dentífrico. Los ingredientes activos en los colutorios, normalmente, son agentes antimicrobianos que tienen un efecto temporal reduciendo el total de los microorganismos presentes en la cavidad oral. Uno de los usos más extendidos de los colutorios es combatir la halitosis.<sup>42</sup> Existen numerosos factores localizados y sistémicos causantes del mal olor oral. Sin embargo, según se trate de una u otra causa podemos estar ante condiciones transitorias, como en los casos del hambre, de un bajo nivel de saliva durante el sueño, de restos alimenticios o de prescripción de drogas o tabaco. En caso de halitosis patológica crónica, las causas pueden ser de origen oral o no. Algunos estudios han demostrado que la producción de olor es el resultado del metabolismo de bacterias. El tratamiento y control del mal olor bucal debe enfocarse a determinar la causa del problema y a discernir su origen, ya sea un problema médico o dental. Desde el punto de vista odontológico, el mejor tratamiento consiste en estimular al paciente a mantener una correcta higiene oral. El uso de colutorios será recomendado según su grado de eficacia científicamente comprobada.<sup>43</sup> El control de la placa microbiana y de sus efectos sobre la salud bucal es una preocupación constante entre los especialistas e investigadores sobre el tema. Lo más comúnmente usado es control mecánico mediante cepillado y elementos



coadyuvantes; sin embargo tiene resultados muy limitados pues depende en gran medida de la destreza manual del paciente. Por otro lado, algunos compuestos químicos han demostrado ser efectivos en el control de la placa microbiana mejorando los efectos del cepillado dental.<sup>44</sup>

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Ubicación**

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios del Centro de producción del área académica de farmacia y en los laboratorios de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, Provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho, en los meses de abril y junio del 2010.

#### **3.2 Población y muestra**

##### **3.2.1. Población**

Planta madura de *Bidens pilosa* L "sillkau" del distrito de Ayacucho, Provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho a 2 760 m.s.n.m.

##### **3.2.2. Muestra estudiada**

1000 g de hojas de *Bidens pilosa* L "sillkau" recolectadas en el distrito de Ayacucho, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho. El muestreo fue por conveniencia.

##### **3.2.3. Unidad experimental**

Las cepas de bacterias orales fueron obtenidas de las salivas no estimulada de alumnos del tercero y cuarto grado de primaria de la escuela Señor de Agonía del distrito y departamento de Ayacucho. Las muestras se recolectaron en la mañana antes del ingreso a sus clases.

### **3.3. METODO**

#### **3.3.1. Diseño experimental**

En el presente trabajo se aplicó un Diseño Completamente al Azar (DCA). Tanto para la muestra biológica de la planta *Bidens pilosa* L "sillkau" como para la toma de muestra salival de los alumnos.<sup>4</sup>

##### **3.3.1.1. Identificación, Secado y preparación de la muestra**

Se seleccionó una planta entera completa con tallo, hojas, raíz y flores, las semillas se recolecto de las plantas más maduras. La planta se extendió y plancho sobre un papel bond A-4 fijándolo con cinta adhesiva. Luego se procedió a trasladarlo al herbario de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, para su identificación. Se recolectaron las hojas de *Bidens pilosa* L "sillkau" en buen estado de conservación. En seguida fueron sometidas a una limpieza, separando las hojas defectuosas y restos de tallo. Luego fueron desecados a la sombra extendiéndolas por un periodo de dos semanas hasta que las hojas estén secas. Las hojas deshidratadas fueron pulverizadas usando el molino de tornillo sin fin. El polvo obtenido se guardó en envases de boca ancha de color oscuro para preservarlos de la luz y de la contaminación del medio.<sup>45</sup>

##### **3.3.2. Obtención del extracto**

Se pesó 400 g de polvo de las hojas de *Bidens pilosa* "sillkau" y se llevó a un frasco oscuro de cuatro litros de capacidad.

Ello se hizo por duplicado. Seguidamente se agregó dos litros de etanol al 96 %. La mezcla del polvo con el etanol contenido en el frasco se agitó en forma circular hasta lograr que todo el polvo se empape. Se dejó macerar por dos semanas con agitaciones diarias. Luego se filtró con papel filtro en un erlenmeyer de 250 ml. La muestra filtrada se depositó en un plato y llevó a secar

a 25 °C de temperatura hasta que se evaporó todo el alcohol. Obteniéndose así un residuo como muestra problema a partir del cual preparó las diversas concentraciones de 1 por ciento 5 por ciento y 10 por ciento<sup>46</sup>

### **3.3.3. Tamizajefitoquímica**

Del extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* L "sillkau" filtrado, se toma alícuotas para la identificación de principios activos, posteriormente se procedió según la técnica descrita por Miranda y Aguilar.<sup>47, 48</sup>

### **3.3.4. Preparación de la muestra problema**

La muestra problema fue preparada a partir del extracto etanólico concentrado de donde se procedió a pesar 0,1 g del extracto evaporado, luego se depositó en un tubo de ensayo estéril para agregarle agua destilada cantidad suficiente para 10 ml. Se llevó a calor hasta que se homogenizó la solución, obteniéndose el colutorio al 1 por ciento de concentración.

Para las demás concentraciones se pesaron 0,5 g y 1,0 g de extracto evaporado respectivamente, depositándolo luego en sus respectivos tubos de ensayo agregando agua destilada cantidad suficiente para 10 ml a cada uno de los tubos luego se llevó a infusión hasta que se disolvieron obteniéndose así los colutorios al 5 por ciento y 10 por ciento de concentración. Estas concentraciones se inocularon con tuberculina a los discos hechos a base de papel filtro.

#### **3.3.4.1. Preparación de la solución estándar Vancomicina (control positivo)**

Se pesó 0,5 g de Vancomicina comercial para disolverlo en 5 ml de agua destilada. Los discos se colocaron con pinzas estériles en las placas sembradas con bacterias orales. La disolución de Vancomicina se inoculó a los discos de papel filtro para actuar como control positivo.

#### **3.3.5. Actividad antibacteriana**

Para la determinación de la sensibilidad de una bacteria frente a un

antibacteriano se utilizó el método microbiológico difusión en agar (disco-placa). Se usó como estándar Vancomicina comercial de 1000 mg.<sup>34 40</sup>

### **3.3.5.1 Tratamientos de la muestra salival**

Las bacterias orales se obtuvieron de muestras salivales extraídos con hisopos estériles de alumnos del tercero y cuarto grado de turno diurno de la escuela Señor de Agonía del distrito de Ayacucho. Se hizo un raspado con hisopo estéril (los hisopos, discos de papel filtro material de vidrio y demás instrumentos fueron esterilizados en autoclave de los laboratorios de microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas). Cada hisopo raspado se introdujo en un tubo de ensayo que contenía suero fisiológico, adecuadamente tapados con algodón, luego se trasladó a los laboratorios, depositándolos en la refrigeradora.<sup>4</sup>

#### **3.3.5.1.1. Tratamiento I**

Se preparó seis tubos de ensayo con nueve ml. de suero fisiológico enumeradas del uno al seis. Del tubo que contenía el hisopo raspado con muestra salival se cogió un ml. y se trasladó al tubo con suero fisiológico procediéndose a realizar diluciones seriada hasta  $10^{-6}$ . Con el mechero bunsen encendido se procedió a sembrar en placas petri que contenían agar, se pipeteó un ml. del tubo de dilución  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$ , respectivamente, y con un hisopo estéril se diseminó por toda la placa.

A continuación se introdujo cuatro discos de 6 mm de diámetro, estériles sobre la cual se añadió con una tuberculina 0,04 ml de diferentes concentraciones de solución problema.

Para bacterias orales en general se usó las placas que contenían Trypticase de soja Agar (TSA), luego que estas estuvieron contaminados se llevó a la estufa graduada a 37 °C y se dejó en ese ambiente por 24 horas. Luego de ese tiempo se observó el crecimiento de las bacterias orales, las placas petri con Trypticase

de soja Agar (TSA) presentaron colonias de diversas formas y colores (anaranjado, blanco, crema, amarillo, de aspecto brillante y gelatinoso) alrededor de los halos de inhibición.<sup>49</sup> Se realizó 25 repeticiones.

#### **3.3.5.1.2. Tratamiento II**

De cada hisopo raspado se introdujo en un tubo de ensayo que contenía suero fisiológico, adecuadamente tapados con algodón, luego se trasladó a los laboratorios, depositándolos en la refrigeradora.

Con el mechero bunsen encendido se procedió a sembrar las placas petri que contenían agar *mitis salivarius* con 10 mg/ml de cloranfenicol.<sup>4</sup>

Las placas sembradas se depositaron en un recipiente donde se introdujo una vela encendida y luego se procedió a tapar el recipiente de esta forma se creó un ambiente de 5 por ciento de CO<sub>2</sub>, se esperó a que la vela se apague para poner las placas a la estufa graduada a 37 °C por 24 horas.

Pasado las 24 horas se revisó el crecimiento de las bacterias orales, las placas petri mostraban colonias azuladas.

Del crecimiento bacteriano se procedió a repicarlos en vialitos con las mismas características de CO<sub>2</sub> mencionadas líneas arriba.

Se preparó seis tubos de ensayo con nueve mililitros enumerados del uno al seis con suero fisiológico.

Del vialito repicado se tomó un raspado con hisopado estéril luego se llevó a un tubo de ensayo con 10ml de suero fisiológico de donde se procedió a realizar diluciones hasta 10<sup>-6</sup>.

Con el mechero bunsen encendido del tubo 10<sup>-5</sup> y 10<sup>-6</sup> se procedió a sembrar en placas petri conteniendo agar *mitis salivarius* con 10 mg/ml de cloranfenicol

A continuación se introdujo cuatro discos estériles elaborados de material de papel filtro de 6 mm de diámetro sobre la cual se añadió la solución problema

Se incorporó, con tuberculina, sobre los discos 0,04 ml (una gota) de diferentes

concentraciones (1 por ciento, 5 por ciento y 10 por ciento respectivamente), a cada disco una concentración del colutorio a base de extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau".

Las placas petri tratadas se depositaron en un recipiente con tapa se le introdujo una vela y luego se procedió a tapar, de esta forma se creó un ambiente de 5 por ciento de CO<sub>2</sub> al recipiente, se esperó a que la vela se apague para ponerle a la estufa graduada a 37 °C por 24 horas.

La lectura de los halos de inhibición se realizó con una regla milimetrada. Se realizó diez repeticiones.

#### **3.3.5.1.3. Tratamiento III**

Para el control positivo se sembró con Trypticase de soja Agar (TSA). Se cogió con hisopo estéril del tubo con bacterias orales de 10<sup>-4</sup> y se procedió a sembrar como se menciona en la página 19

Se introdujo cuatro discos elaborados de material de papel filtro de 6 mm de diámetro.

La disolución de Vancomicina se inoculó a los discos de papel filtro para actuar como control positivo.

Los discos tratados si se colocaron con pinzas estériles dentro de las placas contaminadas, con bacterias orales en general.

Se tapó y llevó a incubar a una estufa graduada 37 °C por un periodo de 24 horas.

Pasado las 24 horas de sembrado se procedió a la lectura de los halos de inhibición con una regla milimetrada. Se realizó 25 repeticiones para bacterias orales en general y para los *Streptococcus mutans* con 5 por ciento de CO<sub>2</sub>, se realizó diez repeticiones.

#### **3.3.5.1.4. Tratamiento IV**

Para el control negativo se utilizó agua destilada y se procedió de igual forma

que el tratamiento uno.<sup>49, 50</sup>

Para hallar el porcentaje de halos de inhibición se tomó la fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{halo de inhibición del extracto}}{\text{halo de inhibición del control positivo}} \times 100$$

### **3.4 Análisis de datos**

Los datos obtenidos de los tratamientos se presentan en cuadros y gráficos. Para el análisis de varianza de datos, se emplearon los instrumentos de la estadística inferencial como el ANOVA y la prueba de los rangos múltiples de Tukey ( $p < 0,05$ ) para detectar las diferencias existentes entre los tratamientos, considerando una significancia del 5 por ciento ( $p < 0,05$ ).



## **IV. RESULTADOS**

Tabla 1. Metabolitos secundarios del extracto etanólico de *Bidens pilosa* L "silikau"

Metabolitos Secundarios (E.E)	Ensayo (Rx)	Resultado
Aceites y grasas	SudánIII	+++
Alcaloides	Dragendorff, Mayer, Wagner	++
Flavonoides	Shinoda	++
Lactonas y cumarinas	Baljet	++
Resinas	Resinas	++
Saponinas	Espuma	+++
Taninos y fenoles	Tricloruro férrico	+++
Triterpenos y esteroides	Lieberman-Burchard	+++

Leyenda:

- Rx : Reacción
- (+) : Leve
- (++) : Moderado
- (+++): Fuerte
- E. E : Extracto Etanólico

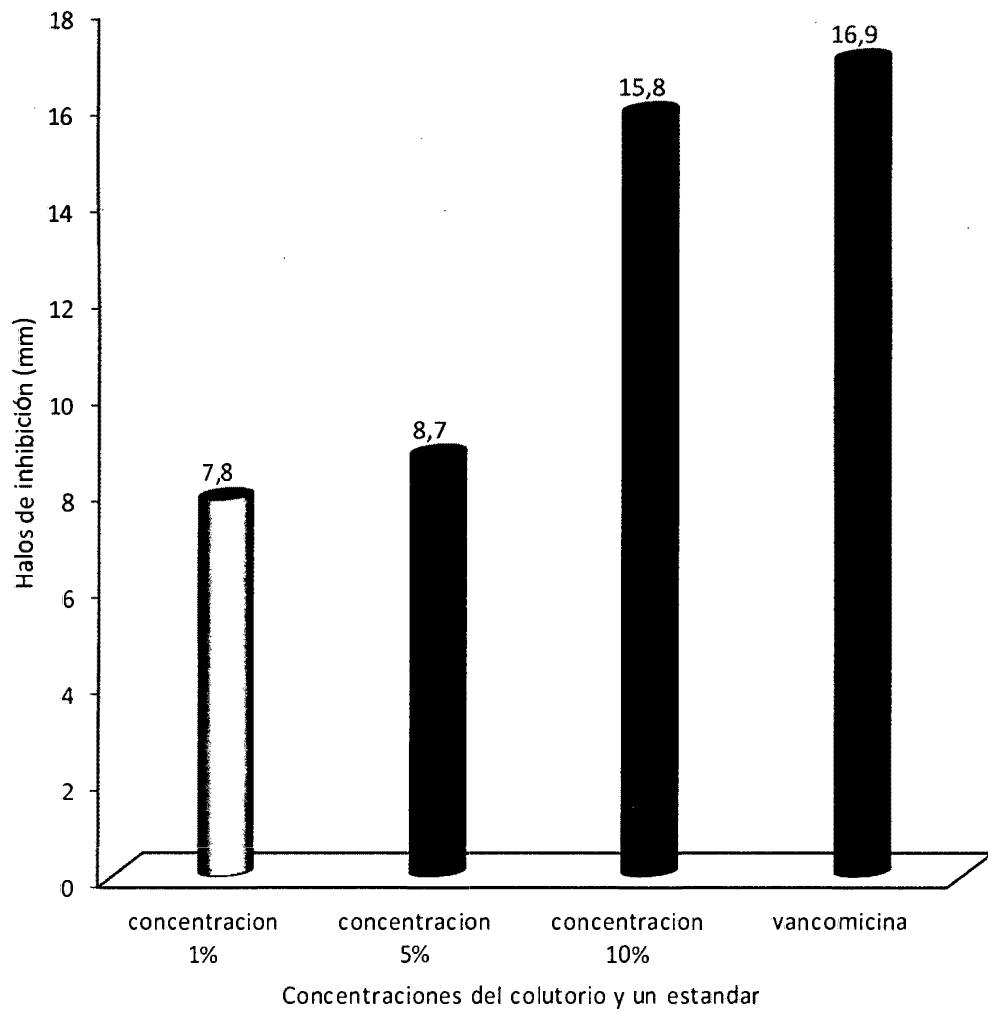


Figura 1. Promedios de halos de inhibición de tres concentraciones sobre *Streptococcus mutans*

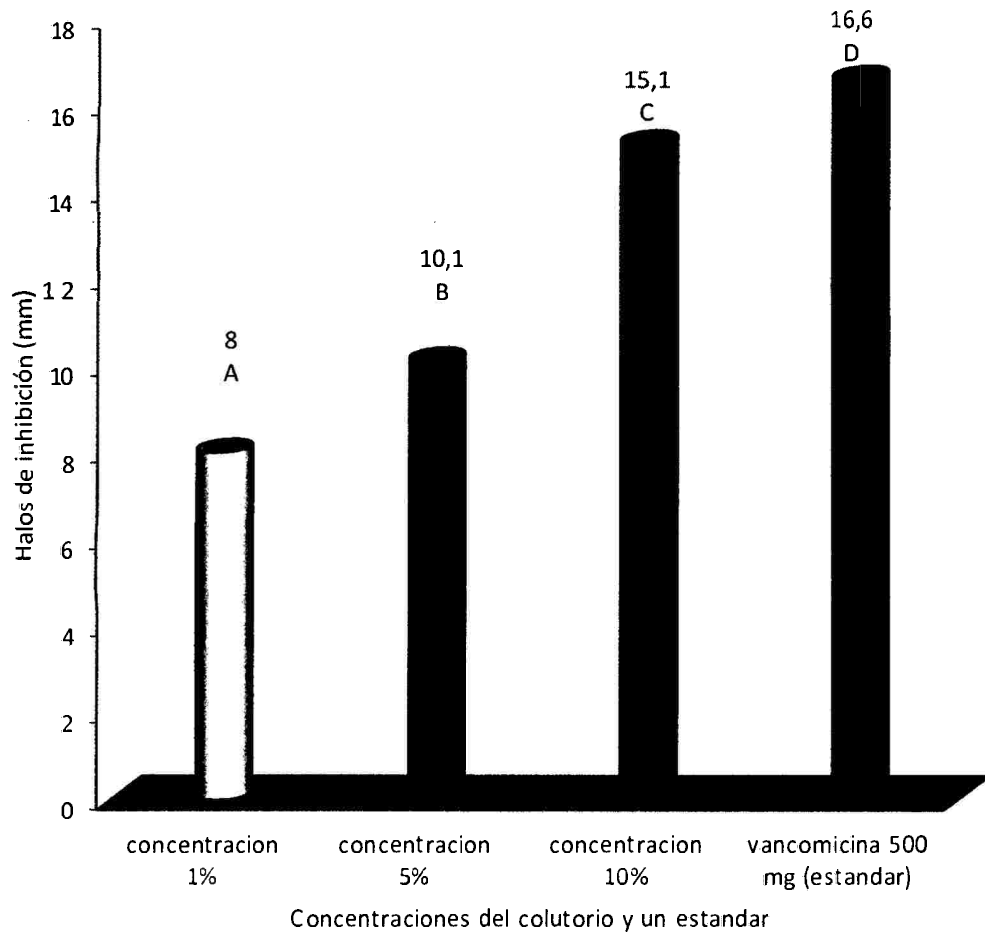


Figura 2. Promedios de halos de inhibición de tres concentraciones sobre bacterias orales

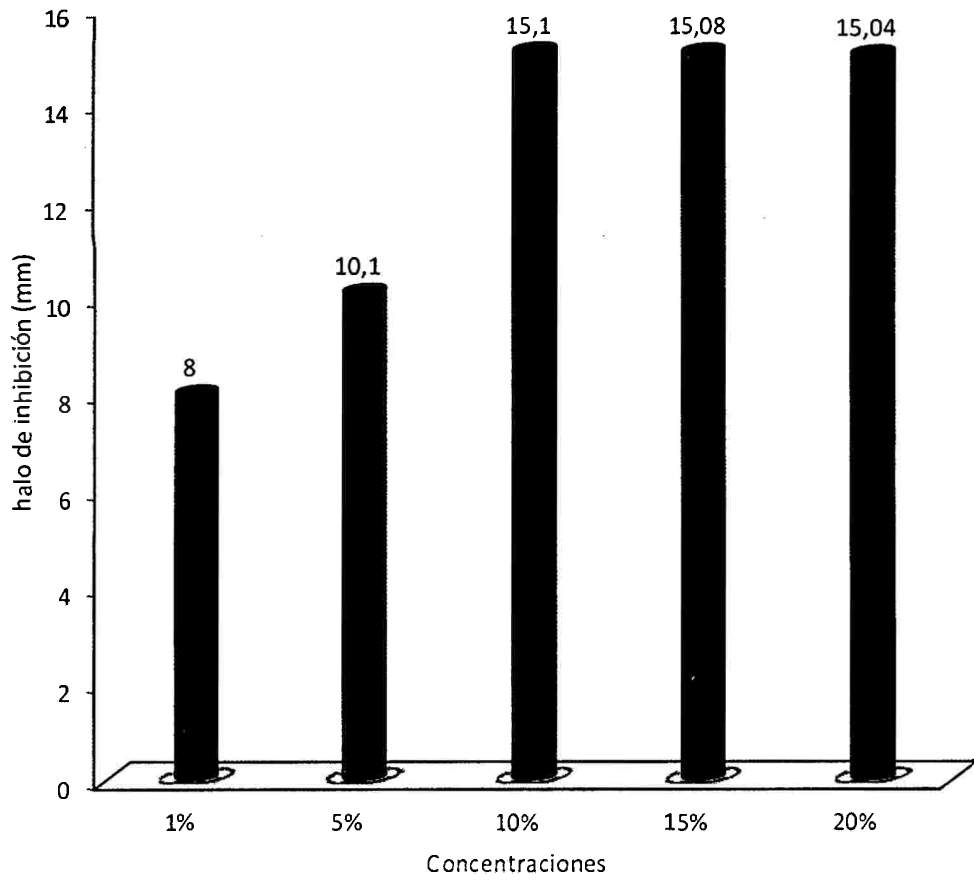


Figura 3. Promedios de halos de inhibición de cinco concentraciones sobre bacterias orales

## V. DISCUSION

La planta *Bidens pilosa* L “sillkau” tiene varias propiedades curativas según la medicina popular, una de ellas es la actividad antibacteriana frente a bacterias orales.

La Tabla 1, nos muestra los metabolitos secundarios reportados en el extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* L “sillkau”, donde se aprecia la presencia de triterpenos, esteroides, saponinas, taninos, fenoles, aceites y grasas, tienen fuerte presencia en las hojas analizadas, asimismo, las resinas, lactonas, cumarinas y flavonoides, tiene moderada presencia, por otro lado los alcaloides mostraron leve presencia.

Cordero,<sup>28</sup> no reporta aceites esenciales ni resinas, pero si identificó triterpenos, esteroides, taninos y compuestos fenólicos tampoco menciona la presencia de saponinas.

Gonzales,<sup>27</sup> también identificó alcaloides, glucósidos, taninos cumarinas flavonoides.

Sin embargo Deba reporta otras moléculas, dice que de 44 componentes identificados en aceite extraído de hojas de *Bidens pilosa* L. el beta cariofilena y t-cadideno fueron los principales compuestos hallados en flores y hojas.<sup>20</sup>

Por otro lado Gorriti<sup>29</sup> identificó: azúcares reductores, mucilagos, pectinas,

taninos, compuestos fenólicos, flavónicos, esteroides, lactonas sesquiterpénicas y aceites esenciales. Nosotros no hemos reportado azúcares reductores lo que contrasta con los resultados de Gorriti.

Arroyo,<sup>23</sup> también reporta que los fenoles y taninos se encuentran en mayor proporción. Así mismo, en otro estudio menciona que tanto la droga como a los extractos presenta: taninos, esteroides y esteroides, flavonoides, glucósidos aurona y chalcona, polisacáridos.<sup>17</sup>

Por su parte Meneses<sup>30</sup> también menciona la presencia de: alcaloides, glucósidos, taninos, camarinas y flavonoides.

Estamos verificando que los componentes que se reporta en el cuadro 1 coinciden con los que registran otros autores.

La Figura 1, nos muestra valores promedio de los halos de inhibición de la comparación múltiple (Tukey) de tres concentraciones del colutorio de extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* L "sillkai" sobre *Streptococcus mutans*, obteniéndose diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ), aquí se puede apreciar que el mayor halo de inhibición se obtuvo con el colutorio a concentración de 10 por ciento reportándose un halo de 15.8 mm próximo al estándar que para el caso fue Vancomicina siendo considerada como bacterias sensibles a este antibiótico a partir de  $\geq 17$  mm de halo de inhibición según el Instituto Nacional de Salud.<sup>51</sup> Los extractos etanólico de 1 por ciento y 5 por ciento tuvieron halos de inhibición de 7,8 y 8,7 mm, de promedio respectivamente; comprobándose así la capacidad antibacteriana del colutorio.

Cordero,<sup>28</sup> demostró que el extracto acuoso de la planta entera de *Bidens pilosa* L posee actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*.

La población oral de bacterias *Streptococcus* después del primer año de edad desciende al 70 por ciento.<sup>37</sup> Los *Streptococcus sanguis* y *Streptococcus mutans*

son habitantes comunes de la cavidad bucal.<sup>36</sup> La placa superficial contiene, principalmente *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguis*. También se aíslan con regularidad actinomicetos y otros filamentos gram-positivos y gram-negativos de posición taxonómica incierta. Con la pérdida dental, la colonización bacteriana disminuye; y varias especies desaparecen. Produciéndose un incremento de levaduras ligadas a la vejes.<sup>37</sup>

En la caries dental frecuentemente encontramos *Streptococcus sobrinus* y *Streptococcus mutans*, ambos son bacterias que producen ácido láctico. El *Streptococcus sobrinus* puede colonizar las superficies lisas del diente debido a su afinidad específica. El *Streptococcus mutans* se halla principalmente en las hendiduras y pequeñas fisuras.<sup>39</sup>

Los datos del Figura 1 son entonces la actividad antibacteriana contra *Streptococcus mutans*.<sup>4</sup>

La Figura 2, muestra valores promedio de los halos de inhibición de la comparación múltiple (Tukey) de tres concentraciones del colutorio de extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* L "sillkai" sobre bacterias orales con ANOVA ( $p < 0.05$ ), el mejor halo de inhibición se obtuvo con el 10 por ciento del colutorio con 15.1 mm diámetro mientras que el colutorio de 1 por ciento, presentó 8.0 mm de diámetro de halo de inhibición y el de 5 por ciento tuvo 10.1 mm de halo encontrándose que la concentración al 10 por ciento es el que más se aproxima al estándar Vancomicina, la cual nos da 16.6 mm de promedio de diámetro de halo de inhibición.

Moromi,<sup>8</sup> encontró que la efectividad de la infusión al 10 por ciento a base de *Camelia sinensis* "té verde" frente a flora salival mixta posee actividad antibacteriana frente a bacterias orales. En su estudio compara la efectividad antibacteriana in vitro frente a Amoxicilina.

Deba,<sup>20</sup> encontró que el aceite de las hojas y flores de *Bidens pilosa* L posee



actividad antibacteriana frente a bacterias gram-positivas y gram-negativas teniendo mejor efecto en las gram- negativas.

La actividad antimicrobiana *in vitro* de *Plantago major* L, *Erythroxylum novogranatense*, y *Camellia sinensis* sobre bacterias de importancia estomatológica (*Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Actinomyces viscosus*, *Prevotella melaninogenica* y *Fusobacterium nucleatum*) en concentraciones de 25 y 50 µg/ml tuvo resultados positivos.<sup>13</sup>

Como se observa en los trabajos que mencionamos líneas arriba, existe plantas medicinales con propiedades antibacterianas que podrían ser utilizados en forma casera en patologías de la cavidad oral y prevención de la caries, asimismo, reportamos que la planta *Bidens pilosa* L “sillkau” tienen propiedades antibacterianas frente a bacterias orales.

Los taninos son capaces de precipitar ciertas molécula (proteínas, alcaloides, gelatina) dicha capacidad es la base de su poder antibacteriano. Además menciona la propiedad antibacteriana, antivírica y anti fúngicas de los taninos.<sup>32</sup>

Los taninos, tienen la capacidad de precipitar las proteínas, originando un efecto antibacteriano.<sup>44</sup>

La presencia de compuestos fenólicos al ser hidrosolubles son los que están presentes en el colutorio formulado y además los taninos cuya propiedad es precipitar las proteínas al actuar sobre las bacterias orales en general ocasionan su destrucción. Ambas sustancia son responsables de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Bidens pilosa* L “sillkau”.

La Figura 3, reporta los promedios de halos de inhibición de cinco concentraciones diferentes del colutorio a base de extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* L “sillkau” sobre bacterias orales, se puede apreciar que la concentración al 10 por ciento dio como promedio 15,1 de diámetro de halo de inhibición siendo la más óptima con respecto a las otras concentraciones,

asimismo las concentraciones de 15 por ciento y 20 por ciento tienen valores próximos como son 15,08 mm y 15,04 mm de promedio de halos de inhibición respectivamente.

## VI. CONCLUSIONES

1. Se determinó que los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* L "sillkau", con fuerte presencia son: triterpenos, esteroides, taninos, fenoles, aceites, grasas y saponinas, y moderada presencia son: resinas, lactonas, cumarinas y flavonoides.
2. El colutorio a base de extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau" tiene actividad antibacteriana sobre bacterias orales.
3. La concentración del colutorio al 10 por ciento presentó mejor actividad antibacteriana contra bacterias orales.

## VII. RECOMENDACIONES

1. Continuar con investigaciones farmacológicas de de la planta *Bidens pilosa* L "sillkau" frente a otras cepas bacterianas.
2. Se recomienda determinar la Concentración Mínima Inhibitoria, la Concentración Máxima Bactericida y el grado de toxicidad (DL 50) del extracto etanólico de la planta *Bidens pilosa* L "sillkau".
3. Se recomienda realizar estudios de la planta *Bidens pilosa* L "sillkau" frente a patologías de origen micótica.

### VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Ministerio de Salud del Perú. Prevalencia nacional de caries dental, fluorosis del esmalte y urgencia de tratamiento en escolares de 6 a 8, 10, 12 y 15 años, Perú 2001-2002. Serie de Informe técnico de investigación epidemiológica. [artículo en internet] 2005. [citado 2011 enero 12]; 5(50). Disponible en: [www.dge.gob.pe/publicaciones/pub\\_caries/prevalencia\\_caries .pdf](http://www.dge.gob.pe/publicaciones/pub_caries/prevalencia_caries.pdf)
2. Cruz A, Rodríguez N, Rodríguez C. Evaluación *in vitro* del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa* L, *Lantana camara*, *Schinus molle* Y *Silybum marianum*. Actualidad y Divulgación Científica. [revista en internet] 2010 [citado 2012 febrero 20]; 13 (2). Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0123-42262010000200014&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262010000200014&lng=en&nrm=iso).
3. Koneman E. Diagnostico Microbiológico, 6ª Edición. Madrid: Ed. Médica Panamericana, Editorial Médica Panamericana. 2008.
4. Saico R. Densidad poblacional de *Streptococcus mutans* en saliva y su relación con la caries dental, en niños en edad escolar del Asentamiento Humano Madre Covadonga [Tesis]. Ayacucho. Facultad de Ciencias Biológicas. 2002.
5. González A, Martínez T, Alfonzo N, Rodríguez J, Morales A. Caries dental y factores de riesgo en adultos jóvenes: Distrito Capital, Venezuela. Rev Cubana Estomatológica [revista en Internet] 2009 Sep. [citado 2012 3 agosto]; 46(3): 30-37. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75072009000300004&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072009000300004&lng=es)
6. Mesa Temática de Salud Bucal. V Conferencia nacional. Foro Salud Lima [artículo en internet] 2012. [citado 2013 julio 16]; Disponible en: [mesadesaludbucal.blogspot.com/2012\\_01\\_01\\_archiv. htm](http://mesadesaludbucal.blogspot.com/2012_01_01_archiv.htm)
7. Morante S. Valoración cruzada y a doble ciego, mediante modelo de gingivitis experimental, de la eficacia de tres colutorios de clorhexidina sin alcohol frente a prevención de la gingivitis y a la neoformación de placa supragingival. [Tesis doctorado] 2003 [citado 2011 ene 18].disponible en: [biblioteca.ucm.es/ tesis/odo/ucm-t26866.pdf](http://biblioteca.ucm.es/tesis/odo/ucm-t26866.pdf)
8. Moromi N, Martínez C, Gutiérrez G, Ramos D, Núñez M, Burg J, Tello J, Trevejo I. Efecto antimicrobiano in vitro de la *Camelia sinensis* sobre bacterias orales, Revista Odontología Sanmarquina. Facultad de Odontología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú. 2007; 10 (2).
9. Moromi N, Martínez C, Gutiérrez G, Ramos D, Núñez M, Burg J, Tello J, Trevejo I. Efecto antimicrobiano in vivo de la infusión de *camelia sinensis* sobre bacterias orales. Revista Odontología Sanmarquina. Facultad de Odontología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú. 2007; 10 (1).
10. Moromi N, Martínez C. Efecto del té verde en la formación de la placa bacteriana por *Streptococcus mutans*, Revista Odontología Sanmarquina. Facultad de Odontología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. [revista en internet] 2006 [citado 2011 mayo 29]; 09 (2). Disponible en: [sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ odontologia/2006\\_n2/pdf/a07.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/odontologia/2006_n2/pdf/a07.pdf)
11. Díaz L, Moromi N. Determinación antibacteriana in vitro de *Minthostachys mollis* "Muña" frente a bacterias orales de importancia estomatológica. Revista Odontología Sanmarquina. Facultad de Odontología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. [revista en internet] 2005. [citado 2012 mayo 22]; 8 (2). Disponible en: [sisbib.unmsm.edu.pe](http://sisbib.unmsm.edu.pe) > Colección digital

12. Paredes N, Efectividad antibacteriana in vitro de una infusión a base de *Camelia sinensis* y *Minthostachys mollis* sobre flora salival mixta [Tesis].Lima. Facultad de Odontología. 2009.
13. Moromi N, Martínez C. Antibacterianos naturales orales estudios en la Universidad Nacional Mayor de san marcos. Revista Odontología Sanmarquina. Facultad de Odontología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. [revista en internet] 2006. [citado 2013 enero 12]; 12 (1). Disponible en: [sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/odontologia/2009\\_n1/.../a08v12n1.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/odontologia/2009_n1/.../a08v12n1.pdf)
14. Arlene P. Bartolomé, I, Villaseñor, Wen-Chin Yang, “*Bidens pilosa* L. (Asteraceae): Botanical Properties, Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology,” Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, [revista en internet] 2013 [citado 2013 enero 2]; 2013. Disponible en: [dx.doi.org/10.1155/2013/340215](http://dx.doi.org/10.1155/2013/340215)
15. Rojas J, Ochoa V, Ocampo S, Muñoz J. Screening for antimicrobial activity of ten medicinal plants used in Colombian folkloric medicine: A possible alternative in the treatment of non-nosocomial infections.Complementary and Alternative MedicineDepartment of Pharmacy, Universidad de Antioquia, [revista en internet] 2006 febrero [citado 2013 enero 2]; 6 (2). Disponible en: <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/6/2>
16. Borges, C.C. et al *Bidens pilosa* L. (Asteraceae): traditional use in a community of southern Brazil. Rev. bras. plantas med., Botucatu , [revista en internet] 2013 [citado 201311 Sept.]; 15(1). Disponible en :< [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-05722013000100004&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722013000100004&lng=en&nrm=iso)>.
17. Mejia K, Rengifo E. Plantas medicinales de uso popular en la amazonia paruana. 2da ed. Lima: Editorial Agencia española de cooperación internacional. 2000; 30.
18. Lastra H y Ponce de León H. *Bidens pilosa* Linné. rev cubana plantmed [revista en internet] 2001 [citado 2012 diciembre 13]. (1):28-33. Diponible en : [bvs.sld.cu/revistas/pla/vol6\\_1\\_01/pla07101.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol6_1_01/pla07101.htm)
19. Romero M, Magallanes C, De La Cruz J, Villegas. Evaluación de plantas medicinales con propiedades antioxidantes, en los distritos de Ayacucho, Carmen Alto, de la provincia de Huamanga. Rev investigación. Ayacucho; 2006.
20. Deba Dang Xuan, Masaaki Yasuda Shinkichi Tawata. Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Biens pilosa* Linn var *Radiata*. Cience direct [revista en internet] 2008 abril [citado 2011 diciembre 13]; 19(4), 346-352. Disponible en: [193.146.160.29/gtb /sod/.../1031122\\_Deba.pdf](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1602999208001122)
21. Yi Jou H, Tsu-Han L, Lee Tian C, Yuh Tin H, Wen Chin Y. Hyperglycemic effects and mechanism of *Bidens pilosa* water extrac. Ethnopharmacol. [revista en internet] 2009 Mar [citado 2013 julio 13]; 122(2):379-83. Disponible en:[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19162158](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19162158)
22. Waizel-bucay j y Martínez. Plantas empleadas en odontalgias. Medigrafic Artemisa. [revista en internet] 2007 Septiembre-Octubre.[citado 2012 mayo 22]. 64(5) 173-186. Disponible en:[www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2007/od075b.pd](http://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2007/od075b.pd)
23. Arroyo, J., Bonilla, P., Ráez, E., Suárez, S., Palomino, R., Terán, S., Villarreal, A., Marin, M., Chenguayén, J., Justil, H. Compuestos fenólicos de la fracción metanólica de *Bidens pilosa*, sobre la neoplasia gástrica, inducida en ratas. Anales de la Facultad de Medicina, revista investigación. UNMSM [revista en internet]; 2013 feb.[citado 16 Sep. 2013]; 68. Disponible en:

- <<http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/anales/article/view/1220>>.
24. Arroyo, J., Bonilla, P., ORé, R., Ráez, E., Marin, M., Valencia, J., Justil, H., Martínez, J., Palomino, C. Estudio morfohistológico y efecto quimioprotector de las hojas de *Bidens pilosa* L. sobre el cáncer de colon inducido en ratas. Anales de la Facultad de Medicina, revista investigación. UNMSM [revista en internet] 2013, feb. [citado 16 Sep. 2013]; 69. Disponible en: <<http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/anales/article/view/1146>>.
  25. Arroyo, J., Bonilla, P., Ráez, E., Barreda, A., Huamán, O. Efecto quimioprotector de *Bidens pilosa* L en el cáncer de mama inducido en ratas. Anales de la Facultad de Medicina, revista investigación. UNMSM [revista en internet] 2011 mayo. [citado 16 Sep. 2013]; 71. Disponible en: <<http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/anales/article/view/88>>
  26. Huamani, M. y Ruiz J. Actividad antifúngica contra *Cándida albicans* y *Aspergillus niger* de 10 plantas medicinales de tres departamentos del Perú [Tesis]. Lima. Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2005.
  27. Gonzales, V. Actividad diurética del extracto atomizado de *Bidens pilosa* L "sillkau" en cobayos. [Tesis]. Ayacucho. Facultad de Ciencias Biológicas. 2003.
  28. Cordero, K. Estudio fitoquímico y su utilización en medicina tradicional de *Bidens pilosa* L "sillkau" [Tesis]. Ayacucho. Facultad de Ciencias Biológicas. 1991.
  29. Gorriti A, Rosa Zárate R, Jurado B. Bioensayos en especies de *Bidens* con actividad terapéutica. Ciencia e Investigación [revista en internet] 1998; Diciembre 1998 [citado 2012 Sep 23]; 1(2). disponible en: [sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/Ciencia/V01\\_N2/bidens.htm](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/Ciencia/V01_N2/bidens.htm)
  30. Meneses R. Marcha fitoquímica y evaluación de la actividad cicatrizante de tallos y hojas de *Bidens pilosa* L "sillkau" [Tesis]. Ayacucho. Facultad de Ciencias Biológicas. 2001
  31. Parimala krishnan S, Akalanka D Anton S, Arul G, Manavalan R, SridharNatarajan. Studies of anticancer and antipyretic activity of *Bidens pilosa* whole plant. Afr Health Sci. Makerere Medical School. Uganda. [revista en internet] 2006 March; 6(1) [citado 16 Sep. 2013]; 6(1): 27–30. disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1831956/>
  32. Kuklinski C. Farmacognosia estudio de las drogas y sustancias medicamentosas. Barcelona: Omega. 2000
  33. Flores farmacología. 3ra edición. Barcelona España: Edim C.C.L. 1998.
  34. Murray P, Rosenthal K. Microbiología Medica, 5ta edición. España: Editorial Elsevier. 2006.
  35. Harrison's J. Principios de la Medicina Interna. México: Editorial Nueva Interamericana S.A. 1991.
  36. Marcantoni, M. Ecología de la cavidad oral. Argentina: Editorial panamericana. 1999.
  37. Liébana, J. Microbiología oral. 2da ed. España. Editorial Mac Grawn Hill. 2002
  38. Zalba J. La saliva fuente de salud para la boca. Zona hospitalaria. [artículo en el internet] mayo junio 2010 [Citado agosto 8 2013]; nº 23 Disponible en: [www.capdental.net/documentos/.../1\\_1\\_la\\_saliva\\_fuente\\_de\\_salud.pdf](http://www.capdental.net/documentos/.../1_1_la_saliva_fuente_de_salud.pdf)
  39. Palomer R Leonor. Caries dental en el niño: Una enfermedad contagiosa. Rev. chil. pediatr. [revista en la Internet] 2006 Feb [citado 2013 Sep 16]; 77(1): 56-60. Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0370-41062006000100009&lng=es](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-41062006000100009&lng=es).

40. Madigan M. Biología de los microorganismos. Ed 10ma. España: edit. Prentice Hall.2003.
41. Harris, D. Análisis químico cuantitativo, 3ra ed. España: Editorial Reverte. 2007.
42. Carretero A, Esparza G, Figuero E, Cerero Lapiedra R. Colutorios con alcohol y su relación con el cáncer oral: Análisis crítico de la literatura. Med. oral patol. oral cir. bucal [Revista en la Internet] 2004 Abr [citado 2013 agosto 14]; 9(2): 116-123.Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1698-44472004000200003&lng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1698-44472004000200003&lng=es).
43. Pascual A, Savoini M, Santos A. Halitosis y colutorios orales: Revisión de la literatura. RCOE [revista en la Internet] 2005 Ago. [citado 2013 agosto 14]; 10(4): 417-425. Disponible en:[http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1138-123X2005000400004&lng=Zes](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1138-123X2005000400004&lng=Zes). <http://dx.doi.org/10.4321/S1138123X2005000400004>
44. Jaña P, Yévenes L, Rivera A. Estudio clínico comparativo entre colutorio de p-clorofenol y peróxido de hidrógeno con colutorio de clorhexidina al 0.12% en el crecimiento de placa microbiana y gingivitis. Rev. Clin. Periodoncia Implantología y Rehabilitación Oral [revista Internet]. 2010. [citado 2013 agosto 14] 3(2): 65-68.[ Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S071901072010000200001&lng=es](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S071901072010000200001&lng=es).[http://dx. doi.org/10.4067/S071901072010000200001](http://dx.doi.org/10.4067/S071901072010000200001).
45. Lock, O. (1994) Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de los productos naturales. 2da ed. Edición. Lima: Editorial Fondo de la Universidad Pontificia Católica del Perú; 1994
46. Cáceres A. plantas medicinales de uso medicinal en Guatemala. Guatemala: Editorial universitaria, Universidad de San Carlos; 1996.
47. Miranda, M. Métodos de análisis de drogas y extractos. Instituto de farmacia y Alimentos. Universidad de la Habana Cuba. Ciudad La Habana. Cuba: 1996.
48. Aguilar, e. Guía de prácticas de farmacognosia. UNSCH. 2005
49. García P. Guía de prácticas de biotecnología. UNSCH. 2006
50. Carhualla, C. Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Juglans neotropica* Diels "nogal" en bacterias Gram positivas causantes de infecciones respiratorias agudas. [Tesis]. Ayacucho. Facultad de Ciencias Biológicas. 2005.
51. Cornejo R.Las Plantas Medicinales y su Correcta Utilización [Tesis]. Ayacucho. Facultad de Ciencias Biológicas. 1996.
52. Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el Método de Disco Difusión, Editorial del Instituto Nacional de Salud. Serie de Normas Técnicas N° 30 Lima.2002.



## ANEXOS

Anexo 1

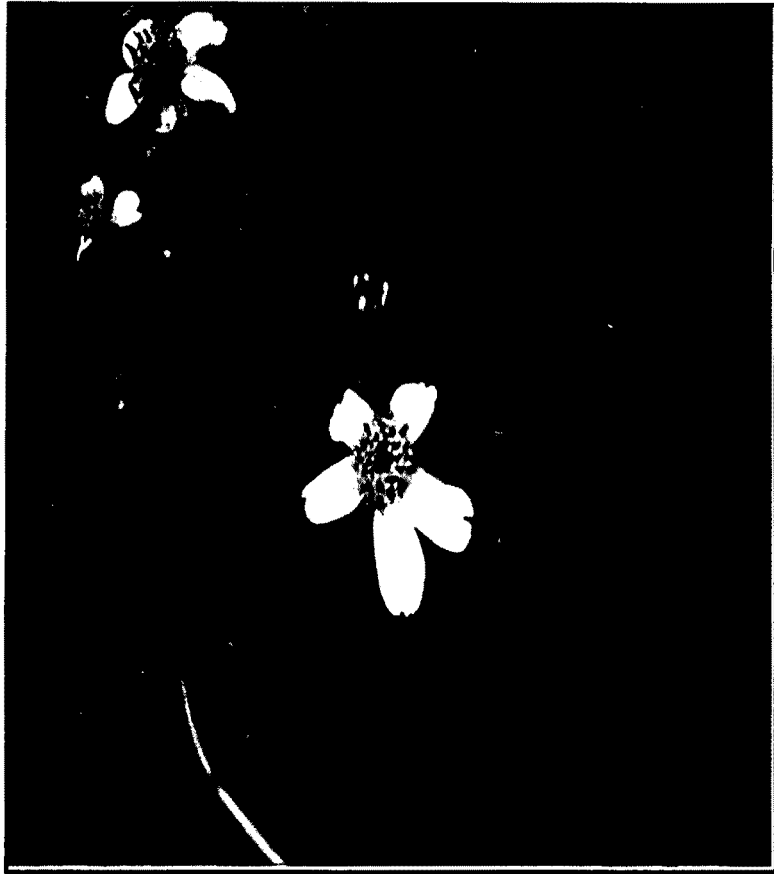


Figura 4. Planta *Bidens pilosa* L. "sillkau"



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA

### C E R T I F I C A

Que, el Bach. en Farmacia y Bioquímica, Sr. **Agustín, MULLISACA VEGA**, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de CRONQUIST, A (1988), y es como sigue

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	ASTERALES
FAMILIA	:	ASTERACEAE
GENERO	:	Bidens
ESPECIE	:	<i>Bidens pilosa L.</i>
N.V.	:	"sillkau"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 27 de Enero del 2012.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
HERBARIUM HUAMANGENSIS  
  
**Bjpa. Luzmila Arcustine Medina**  
JEFE

Anexo 3

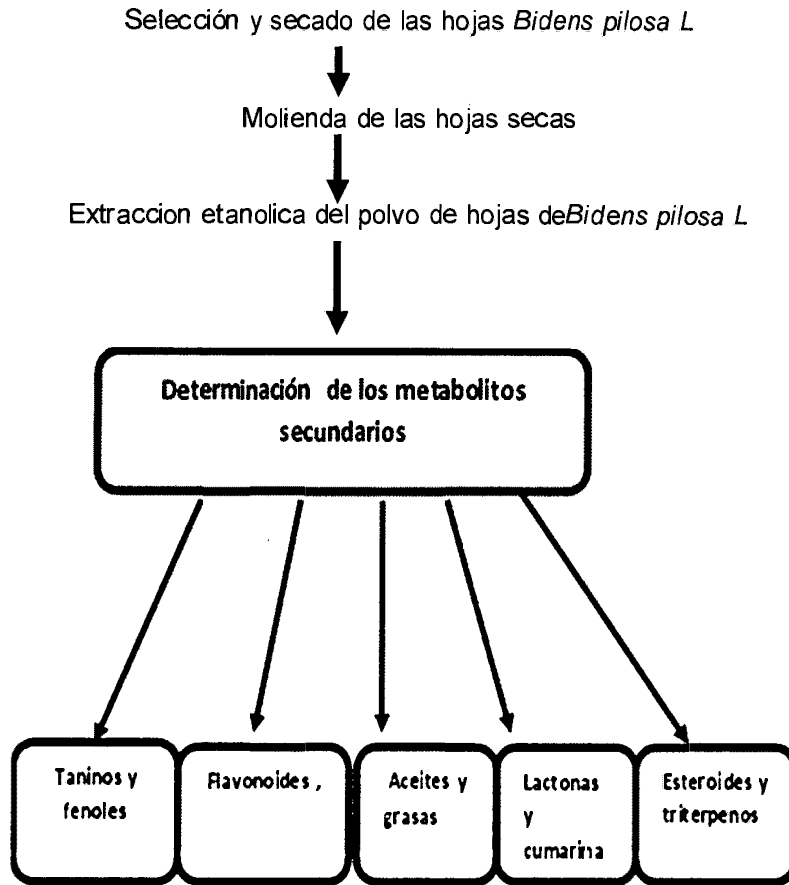


Figura 6. Flujo grama de obtención de metabolitos secundarios<sup>48</sup>

Anexo 4

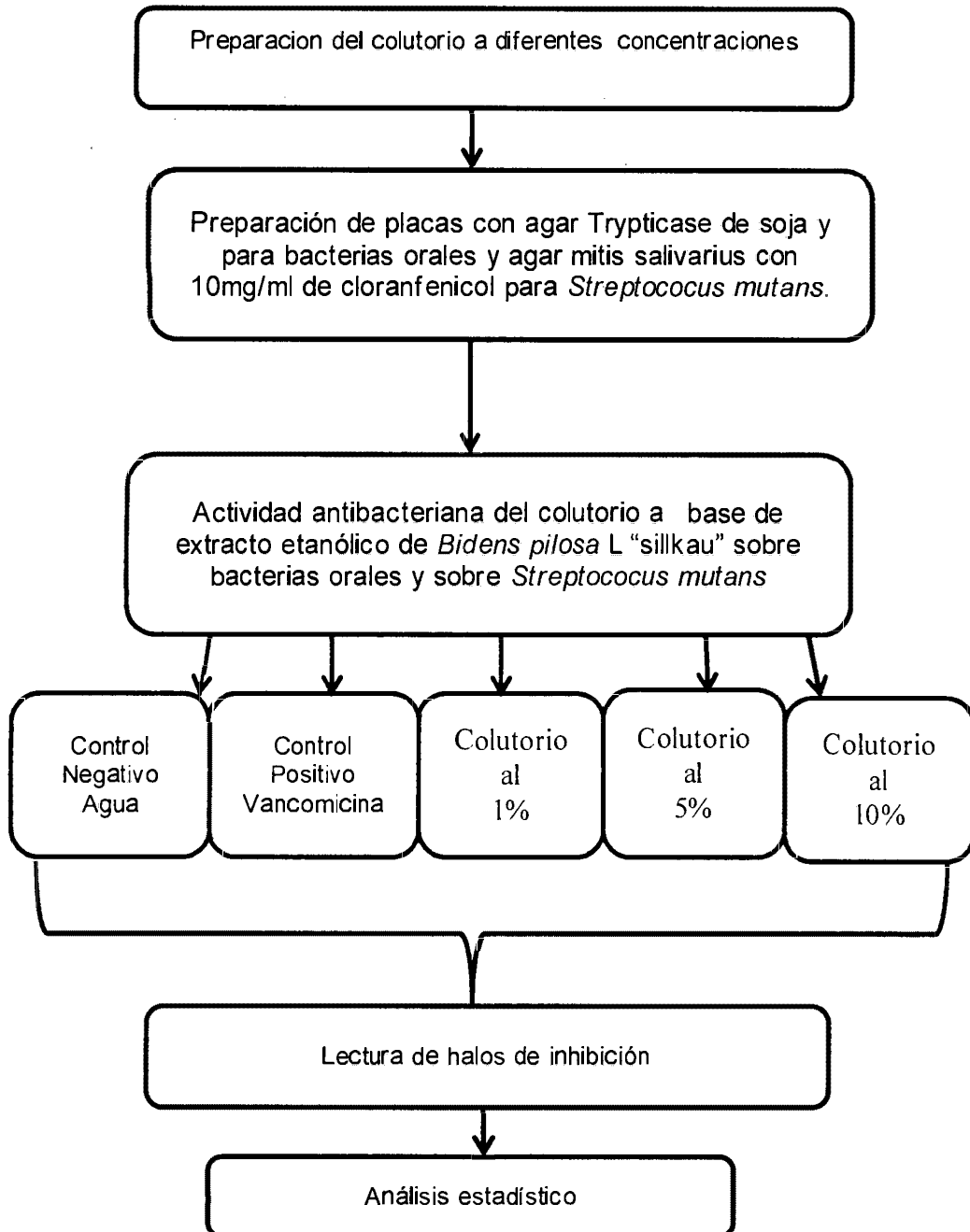


Figura 7. Flujo grama de actividad antibacteriana<sup>3, 4, 8,48</sup>

Anexo 5

Tabla 2. Halos de inhibición del colutorio sobre bacterias orales

	Concentraciones del colutorio a base de extracto etanólico de <i>Bidens pilosa</i> L "sillkau"			estándar Vancomicina
	1%	5%	10%	50mg/ml
	7	10	15	17
	7	10	15	17
	8	11	14	18
	7	10	15	18
	9	11	11	17
	7	10	16	18
	9	10	15	17
	7	9	15	18
	8	9	16	19
	7	12	16	19
	9	12	17	16
	10	11	15	16
	11	11	15	15
	7	10	14	15
	7	10	16	17
	7	10	16	17
	10	9	14	15
	9	9	15	16
	8	10	15	16
	8	10	14	16
	8	10	16	15
	7	10	16	17
	7	9	15	15
	9	10	15	16
	7	10	16	16
Promedio del halo de inhibición (mm)	8	10,1	15,1	16,6
% de actividad antibacteriana	48,2	60,8	91,0	100,0

## Anexo 6

Tabla 3. Análisis de varianza de halos de inhibición del colutorio sobre bacterias orales.

Halos de inhibición	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1210,214	3	403,405	257,106	0.000
Intra-grupos	150,626	96	1,569		
Total	1360,840	99			

Anexo 7

Tabla 4. Halos de inhibición del colutorio sobre *Streptococcus mutans*

	Concentraciones del colutorio a base de extracto etanólico de <i>Bidens pilosa</i> L "sillkau"			estándar Vancomicina
	1%	5%	10%	50mg/ml
	7	9	15	16
	6	9	14	16
	8	10	16	17
	8	8	17	18
	8	7	17	16
Diámetro de los halos	9	8	16	16
Halos de inhibición en	9	7	15	18
Bacterias orales (mm)	7	9	15	18
	7	10	16	16
	9	10	17	18
Promedio del halo de inhibición (mm)	7,8	8,7	15,8	16,9
% de actividad antibacteriana	46,2	51,5	93,5	100,0



Anexo 8

Tabla 5. Análisis de varianza de halos de inhibición sobre *Streptococcus mutans*

Halos de inhibición	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	666,200	3	222,067	198,866	0.000
Intra-grupos	40,200	36	1,117		
Total	706,400	39			

Anexo 9

Tabla 6. Halos de inhibición del colutorio sobre bacterias orales

	Concentraciones del colutorio a base de extracto etanólico de <i>Bidens pilosa</i> L "sillkau"				
	1%	5%	10%	15%	20%
	7	10	15	14	15
	7	10	15	14	14
	8	11	14	15	15
	7	10	15	15	15
	9	11	11	14	12
	7	10	16	15	14
	9	10	15	16	14
	7	9	15	16	15
Díámetro de los halos	8	9	16	15	15
Halos de inhibición en	7	12	16	15	15
Bacterias orales (mm)	9	12	17	16	15
	10	11	15	15	16
	11	11	15	15	16
	7	10	14	15	15
	7	10	16	14	16
	7	10	16	15	15
	10	9	14	15	14
	9	9	15	16	16
	8	10	15	16	16
	8	10	14	16	16
	8	10	16	15	15
	7	10	16	15	16
	7	9	15	15	16
	9	10	15	16	15
	7	10	16	14	15
Promedio del halo de inhibición (mm)	8	10,1	15,1	15,08	15,04
% de actividad antibacteriana	48,2	60,8	91,0	90,8	90,6

Anexo 10

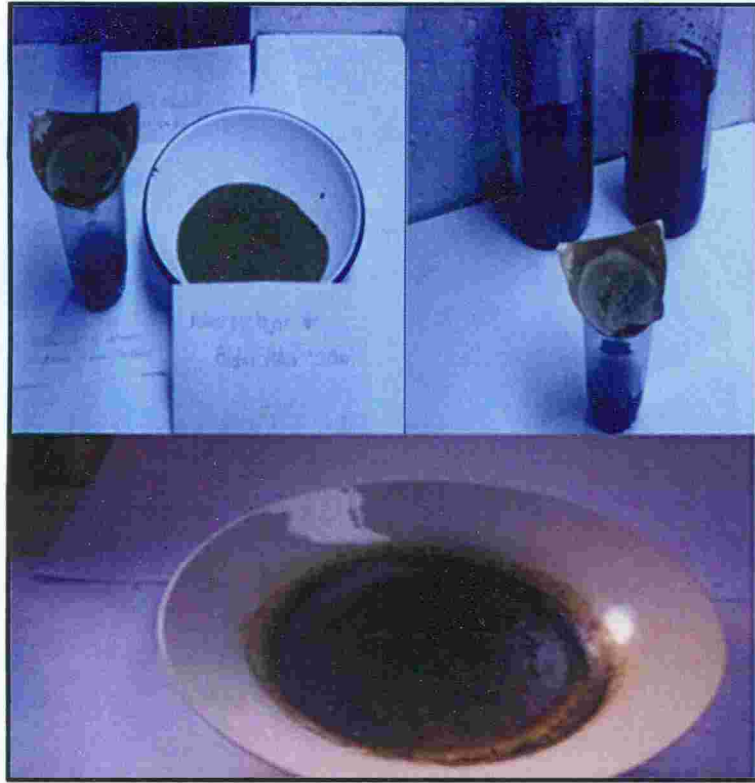


Figura 8. Extracción, filtración y secado del extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* L "sillkau"



Figura 9. Toma de muestra salival, aislamiento y reactivación de bacterias orales

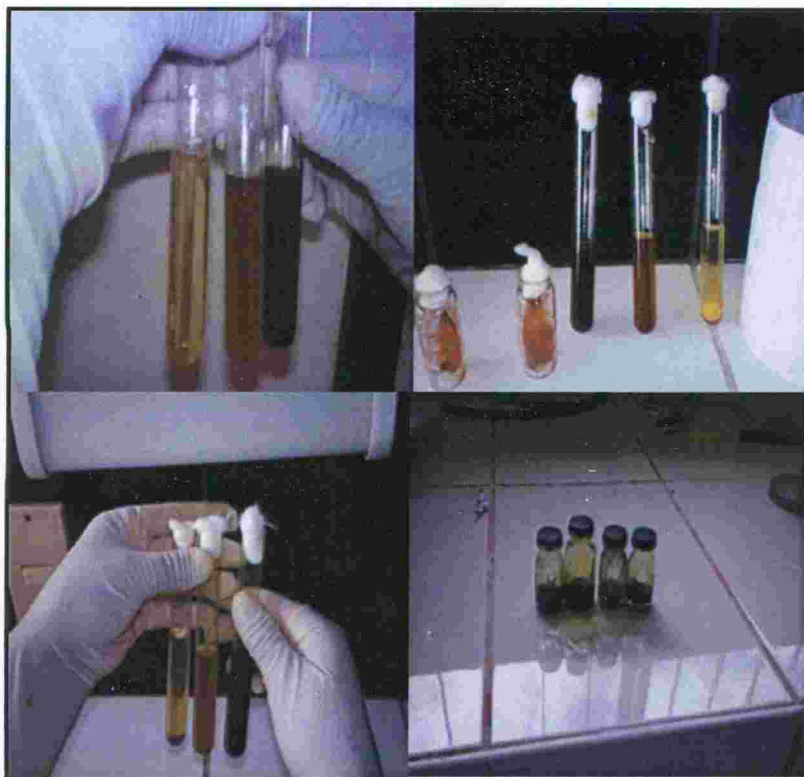


Figura 10. Tres concentraciones del colutorio a base de extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* L. "silkau"



Figura 11. Dilución del agar y preparación de placas Petri



Figura 12. Resultados de actividad antibacteriana (halos de inhibición)

Tabla 4 Matriz de consistencia

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	VARIABLES	HIPÓTESIS	METODOLOGÍA
Actividad antibacteriana del colutorio de extracto etanolico de hojas de <i>Bidens pilosa</i> "silkau" sobre bacterias orales. Ayacucho 2009.	¿Poseerá actividad antibacteriana el colutorio de extracto etanolico de hojas de <i>Bidens pilosa</i> "silkau" sobre bacterias orales?	OBJETIVO GENERAL - Evaluar la actividad antibacteriana del colutorio de extracto etanolico de hojas de <i>Bidens pilosa</i> "silkau" sobre bacterias orales	Moromi H. y col. (2007), en una investigación sobre bacterias orales, determinó el efecto antibacteriano in vitro de soluciones de <i>Carmelia sinensis</i> "té verde", recolectaron saliva de 40 estudiantes universitarios y sembraron en un medio de Agar Tripticosa Soya Utilizaron el método de difusión por discos de soluciones de té y controles positivos (Amoxicilina) y negativo (agua destilada) encontrando actividad antibacteriana contra cepas de <i>streptococcus Mutans</i> y también sobre bacterias orales. Huamani, M. (2005) en su tesis determinación de la actividad antifúngica contra <i>candida albicans</i> y <i>aspergillus niger</i> de 10 plantas medicinales de tres departamentos del Perú registra que la planta <i>Bidens pilosa</i> L. tiene actividad antimicrobica frente a ambas cepas de hongos El screening farmacognóstico de <i>Bidens pilosa</i> L. identificó: azúcares reductores, mucilagos, pectinas, taninos, compuestos fenólicos, flavónicos, esteroides, lactonas sesquiterpénicas y aceites esenciales.	VARIABLE INDEPENDIENTE: Colutorio de extracto etanolico de hojas de <i>Bidens pilosa</i> "silkau"  INDICADOR: Diferentes concentraciones de los extractos de hojas de <i>Bidens pilosa</i> "silkau" 1%, 5% Y 10%.	El colutorio de extracto etanolico de hojas de <i>Bidens pilosa</i> "silkau" posee actividad antibacteriana sobre bacterias orales.	POBLACION Hojas de <i>Bidens pilosa</i> "silkau" del distrito de Ayacucho-Huamanga MUESTRA 1000 gr. de hojas de <i>Bidens pilosa</i> "silkau" del distrito de Ayacucho METODOLOGIA Método disco de difusión -preparar las placas con agar tripticosa de soya -incorporar los discos con el colutorio -diseminar los microorganismo con un hisopo estéril en toda la superficie -Inoculación del colutorio de diferentes concentraciones con una tuberculina -Incubar las placas después 5 min de 24 a 48 horas a una temperatura de 37°C. -leer halo de inhibición con una regla en mm
		OBJETIVOESPECÍFICO -Determinar los metabolitos secundarios presentes en las hojas de <i>Bidens pilosa</i> "silkau" -Determinar la concentración eficaz antibacteriana del colutorio de extracto etanolico de hojas de <i>Bidens pilosa</i> "silkau" sobre bacterias orales		VARIABLE DEPENDIENTE: Actividad antibacteriana del colutorio de extracto etanolico de hojas <i>Bidens pilosa</i> "silkau" sobre bacterias orales  INDICADOR: Halo de inhibición (en mm.)		ANÁLISIS ESTADÍSTICO Los datos serán analizados mediante análisis de varianza y la prueba de tukey



**Actividad antibacteriana del colutorio de extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* "silkau" sobre bacterias orales. Ayacucho 2009**

Agustín Mullisaca Vega<sup>1</sup>, Marco Aronés Jara<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho, Perú.

**RESUMEN**

Los objetivos de este trabajo fueron: Determinar los metabolitos secundarios presentes en las hojas de *Bidens pilosa* "silkau", Evaluar la actividad antibacteriana del colutorio de extracto etanólico de las hojas de la planta sobre bacterias orales y Determinar la concentración eficaz antibacteriana del colutorio de extracto etanólico de hojas de la planta sobre bacterias orales.

En el extracto etanólico se encontró: alcaloides, flavonoides, esteroides y triterpenoides, lactonas, taninos, saponinas, aceites y resinas. Para determinar la actividad antibacteriana del colutorio sobre bacterias orales se tomó muestras salivales sin tratamiento de escolares de ambos sexos entre 7 a 12 años de edad, del colegio Señor de Agonía Ayacucho, a quienes se les hizo un raspado con hisopo estéril, estas muestras se reactivaron con dos tipos de agar (agar tripticosa de soya para bacterias orales agar mitis salivarius con 10 mg/ml de cloranfenicol, en un ambiente de 5 % de CO<sub>2</sub> para *Streptococcus mutans*). Del tubo que contenía el hisopo raspado con muestra salival se cogió un mililitro y se trasladó al tubo con suero fisiológico procediéndose a realizar diluciones seriada hasta 10<sup>-6</sup>. Del tubo de dilución 10<sup>-5</sup> y 10<sup>-6</sup>, respectivamente, se procedió a sembrar. Luego se introdujo cuatro discos estériles sobre la cual se añadió 0,04ml de diferentes concentraciones de solución problema. (Luego de incubarse a 37°C por 24 horas se obtuvo halos de inhibición desde 7.8 mm, 8.7 mm y 15.8 mm frente a *Streptococcus mutans* y de 8.0 mm, 10.1 mm y 15.1mm frente a bacteria orales y para el estándar se obtuvo 17 mm, estos datos fueron procesados mediante la prueba estadística de ANVA y tukey, llegándose a la conclusión que el colutorio de extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* "silkau" tiene actividad antibacteriana sobre bacterias orales.

**Palabras Claves:** *Bidens pilosa* L, colutorio, ecología de la boca, bacterias orales.

**ABSTRACT**

The objectives of this study were to: Determine the secondary metabolites present in the leaves of *Bidens pilosa* "silkau", evaluate the antibacterial activity of ethanol extract mouthwash leaves of the plant on oral bacteria and determine the effective concentration of extract antibacterial mouthwash ethanolic plant leaves oral bacteria .

In the ethanol extract was found: alkaloids, flavonoids, steroids and triterpenoids, lactones, tannins, saponins, oils and resins. To determine the antibacterial activity of oral bacteria mouthwash on salivary sampled untreated school children of both sexes aged 7-12 years old, the Lord of Agony Ayacucho school, who have made a scraping with sterile swab, these samples were reactivated with two types of agar (trypticase soy agar for one oral bacteria, mitis salivarius agar with 10 mg / ml chloramphenicol, in an atmosphere of 5 % CO<sub>2</sub> for *Streptococcus mutans* ) . The tube containing the swab sample scraping with one milliliter of saliva is picked and moved to the tube with saline proceeding to perform serial dilutions to 10<sup>-6</sup>. Dilution tube 10<sup>-5</sup> and 10<sup>-6</sup>, respectively, proceeded to plant. Then introduced sterile four discs on which was added 0.04 ml of various concentrations of the test solution. (after incubating at 37 ° c for 24 hours was obtained inhibition halos from 7.8 mm, 8.7 mm and 15.8 mm against *Streptococcus mutans* and 8.0 mm, 10.1 mm and 15.1mm against bacteria oral and for the standard was obtained 17 mm, these data were processed using the statistical test of ANOVA and Tukey, reaching the conclusion that the ethanol extract mouthwash leaves *Bidens pilosa* "silkau" has antibacterial activity on oral bacteria

**Keywords:** *Bidens pilosa* L, mouthwash, ecology of the mouth, oral bacteria

**INTRODUCCIÓN**

Las enfermedades de la cavidad bucal constituyen un grave problema de salud pública en el Perú por ser la segunda causa de morbilidad en la consulta externa a nivel nacional, están presentes en todas las etapas de vida de las personas, alteran y deterioran el estado nutricional, la salud general, la autoestima, la calidad de vida y el desarrollo humano. Su atención genera altos costos a las familias y al Estado. El Ministerio de Salud realizó un estudio epidemiológico de prevalencia de caries dental, fluorosis del esmalte y urgencia de tratamiento en población escolar de 6 a 8, 10, 12 y 15 años a nivel del país, en el período comprendido entre octubre del 2001 y julio del 2002. Los resultados mostraron como promedio 90% de prevalencia de caries dental en la población escolar. Los departamentos con mayores prevalencias fueron Ayacucho (99,8%), Ica (98,8%), Huancavelica (98,3%) y Cusco (97,2%). (1)

La planta *Bidens pilosa* L es conocida en nuestra localidad como "silkau", de ella se refieren varias propiedades curativas según la medicina popular.

Conocedores que la prevalencia de caries en nuestra región presenta índices preocupantes, lo que demanda atención inmediata a este problema; esto motivó para aprovechar la planta *Bidens pilosa* L "silkau", como recurso natural de nuestra región, por sus múltiples propiedades, principalmente antiinfecciosas. Nos plantemos los siguientes objetivos:

Objetivo general.

-Evaluar la actividad antibacteriana del colutorio de extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* L "silkau" sobre bacterias orales.

Objetivo específico.

-Determinar los metabolitos secundarios presentes en las hojas de *Bidens pilosa* L "silkau".

-Determinar la concentración eficaz antibacteriana del colutorio de extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* L "silkau" sobre bacterias orales.

**MATERIALES Y MÉTODOS**

**Ubicación.**

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios del Centro de producción del área académica de farmacia y en los laboratorios de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, Provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho, en los meses de abril y junio del 2010.

Correspondencia:

Agustín Mullisaca Vega (Rodolfo-tati@outlook.com)  
Fac. Cs. Biológicas. UNSCH. Ciudad Universitaria. Av. Independencia s/n.  
Telf.: (066) 812510 anexo 145  
Biousch\_decano@latinmail.com

**Población.**

Planta madura de *Bidens pilosa* L "silkau" del distrito de Ayacucho, Provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho a 2 760 m.s.n.m.

**Muestra.**

La muestra que se estudio fue 1000 g de hojas de *Bidens pilosa* L "silkau" recolectadas en el distrito de Ayacucho, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho. El muestreo fue por conveniencia.

**Unidad experimental**

Cepas de bacterias orales obtenidas de saliva de alumnos del tercero y cuarto grado de la escuela Señor de Agonia del distrito y departamento de Ayacucho

**Recolección de datos.**

En el presente trabajo se aplicó un Diseño Completamente al Azar (DCA). Tanto para la muestra biológica de la planta *Bidens pilosa* L "silkau" como para la toma de muestra salival de los alumnos, recolectados en la mañana antes del ingreso a sus clases.

**Obtención del extracto**

Se pesó 400g de polvo de las hojas de *Bidens pilosa* "silkau" y se levó a un frasco oscuro de cuatro litros de capacidad. Ello se hizo por duplicado. Seguidamente se agregó dos litros de etanol al 96 por ciento. La mezcla del polvo con el etanol contenido en el frasco se agitó en forma circular hasta lograr que todo el polvo se empape. Se dejó macerar por dos semanas con agitaciones diarias.

**Actividad antibacteriana**

Para la determinación de la sensibilidad de una bacteria frente a un antibacteriano se utilizó el método microbiológico difusión en agar (disco-placa). Se usó como estándar vancomicina comercial de 500 mg. (2, 3, 4)

**Tratamientos de la muestra salival**

Se hizo un raspado con hisopo estéril (los hisopos, discos de papel filtro material de vidrio y demás instrumentos fueron esterilizados en autoclave de los laboratorios de microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas).

Cada hisopo raspado se introdujo en un tubo de ensayo que contenía suero fisiológico, adecuadamente tapados con algodón, luego se trasladó a los laboratorios, depositándolos en la refrigeradora. (5)

**Tratamiento I**

Se preparó seis tubos de ensayo con nueve mililitros de suero fisiológico enumeradas del uno al seis.

Del tubo que contenía el hisopo raspado con muestra salival se cogió un mililitro y se trasladó al tubo con suero fisiológico procediéndose a realizar diluciones seriada hasta 10<sup>-6</sup>. Se procedió a sembrar en placas petri que contenían agar, se pipeteó un mililitro del tubo de dilución 10<sup>-5</sup> y 10<sup>-6</sup>, respectivamente, y con un hisopo estéril se diseminó por toda la placa. Se introdujo cuatro discos de 6 mm de diámetro, estériles sobre la cual se añadió 0,04 ml de diferentes concentraciones de solución problema.

Para bacterias orales en general se usó las placas que contenían Trypticase de soja Agar (TSA), se llevó a la estufa graduada a 37°C por 24 horas. Pasado las 24 horas se observó el crecimiento de las bacterias orales (5)

**Tratamiento II**

De cada hisopo raspado se introdujo en un tubo de ensayo que contenía suero fisiológico, adecuadamente tapados con algodón, luego se trasladó a los laboratorios, depositándolos en la refrigeradora. Se procedió a sembrar las placas petri que contenían agar *mitis salivarios* con 10 mg/ml de cloranfenicol. (5) Las placas sembradas se depositaron en un recipiente donde se introdujo una vela encendida y luego se procedió a tapar el recipiente de esta forma se creó un ambiente de 5 % de CO<sub>2</sub> se esperó a que la vela se apague para poner las placas a la estufa graduada a 37°C por 24 horas. El crecimiento mostraba colonias azuladas. Del crecimiento bacteriano se procedió a replicarlos en vialitos con las mismas características de CO<sub>2</sub> mencionadas líneas arriba. se hizo diluciones hasta

10<sup>-6</sup>. Se procedió a sembrar en placas petri conteniendo agar *mitis salivarios* con 10mg/ml de cloranfenicol. A continuación se introdujo cuatro discos estériles elaborados de material de papel filtro de 6 mm de diámetro sobre la cual se añadió la solución problema. Se incorporó, con tuberculina, sobre los discos 0,04 ml (una gota) de diferentes concentraciones (1 %, 5 % y 10 % respectivamente), a cada disco una concentración del colutorio. Se creó un ambiente de 5 por ciento de CO<sub>2</sub> al recipiente, luego se llevó estufa a 37 °C por 24 horas. La lectura de los halos de inhibición se realizó con una regla milimetrada.

**Tratamiento III**

Para el control positivo se sembró con Trypticase de soja Agar (TSA). Se cogió con hisopo estéril del tubo con bacterias orales de 10<sup>-5</sup>

Se procedió de igual forma que el tratamiento I

Para estreptococos se procedió de idéntica forma que el tratamiento II con 5% de CO<sub>2</sub> se realizó diez repeticiones.

**3.3.5.1.4. Tratamiento IV**

Para el control negativo se utilizó agua destilada y se procedió de igual forma que el tratamiento uno.

Para hallar el porcentaje de halos de inhibición se tomó la fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{halo de inhibición del extracto}}{\text{halo de inhibición del control positivo}} \times 100$$

**Análisis estadístico.**

Para el análisis de varianza de datos, se emplearon los instrumentos de la estadística inferencial como el ANOVA y la prueba de los rangos múltiples de Tukey (p<0.05) para detectar las diferencias existentes entre los tratamientos, considerando una significancia del 5% (p< 0.05).

**RESULTADOS.**

Tabla 1 Metabolitos secundarios del extracto etanólico de *Bidens pilosa* L "silkau"

Metabolitos Secundarios (E.E)	Ensayo (Rx)	Resultado
Aceites y grasas	Sudán III	+++
Alcaloides	Dragendorff, Mayer, Wagner	+
Flavonoides	Shinoda	++
Lactonas y cum	Baljet	++
Resinas	Resinas	++
Saponinas	Espuma	+++
taninos y fenoles	Tricloruro férrico	+++
Triterpenos y esteroides	Lieberman-Burchard	+++

**Leyenda:**

- Rx : Reacción
- (+) : Leve
- (++) : Moderado
- (+++): Fuerte
- E. E : Extracto Etanólico

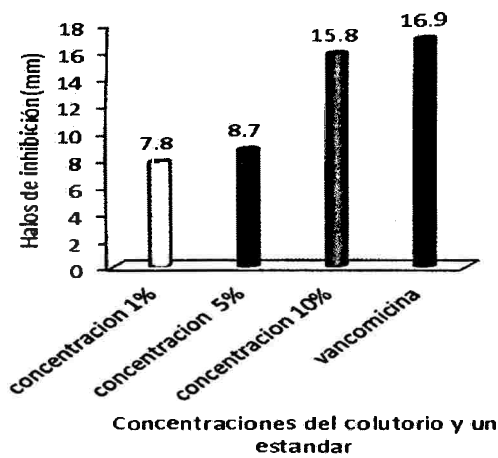


Figura 01. Promedios de halos de inhibición de tres concentraciones de colutorio sobre *Streptococcus mutans*

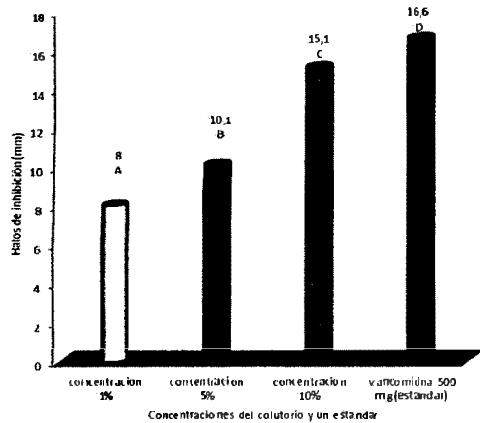


Figura 02. Promedios de halos de inhibición de tres concentraciones de colutorio sobre bacterias orales

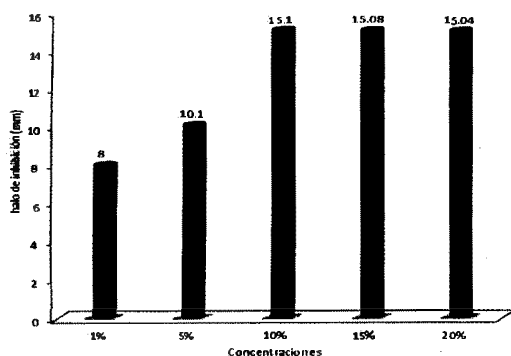


GRÁFICO 03. Promedios de halos de inhibición de cinco concentraciones del colutorio sobre bacterias orales.

**DISCUSIÓN**

La Tabla 1, nos muestra los metabolitos secundarios reportados en el extracto etanólico de hojas de *Bidens*

*pilosa* L "silkau", donde se aprecia la presencia de triterpenos, esteroides, saponinas, taninos, fenoles, aceites y grasas, tienen fuerte presencia en las hojas analizadas, asimismo, las resinas, lactonas, cumarinas y flavonoides, tiene moderada presencia, por otro lado los alcaloides mostraron leve presencia.

Cordero K, no reporta aceites esenciales ni resinas, pero si identificó triterpenos, esteroides, taninos y compuestos fenólicos tampoco menciona la presencia de saponinas. (6)

Gonzales, V también identificó alcaloides, glucósidos, taninos cumarinas flavonoides. (7)

Sin embargo Deba reporta otras moléculas, dice que de 44 componentes identificados en aceite extraído de hojas de *Bidens pilosa* L el beta cariofilena y t-cadideno fueron los principales compuestos hallados en flores y hojas.(8)

Por otro lado Gorriti identificó: azúcares reductores, mucilagos, pectinas, taninos, compuestos fenólicos, flavónicos, esteroides, lactonas sesquiterpénicas y aceites esenciales. Nosotros no hemos reportado azúcares reductores lo que contrasta con los resultados de Gorriti. (9)

Arroyo también reporta que los fenoles y taninos se encuentran en mayor proporción. Así mismo, en otro estudio menciona que tanto la droga como a los extractos presenta: taninos, esteroides y esteroides, flavonoides, glucósidos aurona y chalcona, polisacáridos.(10)

Por su parte Meneses también menciona la presencia de: alcaloides, glucósidos, taninos, camarinas y flavonoides. (11)

Estamos verificando que los componentes que se reporta en el cuadro 1 coinciden con los que registran otros autores.

La Figura 01, nos muestra valores promedio de los halos de inhibición de la comparación múltiple (Tukey) de tres concentraciones del colutorio de extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* L "silkau" sobre *Streptococcus mutans*, obteniéndose diferencia estadística significativa ( $P < 0.05$ ), aquí se puede apreciar que el mayor halo de inhibición se obtuvo con el colutorio a concentración de 10 por ciento reportándose un halo de 15.8 mm próximo al estándar que para el caso fue vancomicina siendo considerada como bacterias sensibles a este antibiótico a partir de  $\geq 17$  mm de halo de inhibición según el Instituto Nacional de Salud. (12) Los extractos etanólicos de 5 % y 10 %, tuvieron halos de inhibición de 7,8 y 8,7 mm, respectivamente; demostrándose así la capacidad antibacteriana del colutorio.

Cordero K, demostró que el extracto acuoso de la planta entera de *Bidens pilosa* L posee actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*. (6)

La población oral de bacterias *Streptococcus* después del primer año de edad desciende al 70 por ciento.(13) Los *Streptococcus sanguis* y *Streptococcus mutans* son habitantes comunes de la cavidad bucal. La placa superficial contiene, principalmente *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguis*. También se aíslan con regularidad actinomicetos y otros filamentos gram-positivos y gram-negativos de posición taxonómica incierta. Con la pérdida dental, la colonización bacteriana disminuye; y varias especies desaparecen. Produciéndose un incremento de levaduras ligadas a la vejes. (14)

En la caries dental frecuentemente encontramos *Streptococcus sobrinus* y *Streptococcus mutans*, ambos son bacterias que producen ácido láctico. El *Streptococcus sobrinus* puede colonizar las superficies lisas del diente debido a su afinidad específica. El *Streptococcus mutans* se halla principalmente en las hendiduras y pequeñas fisuras. (15)

Los datos del Figura 1 son entonces la actividad antibacteriana contra *Streptococcus mutans* por el método de Saico. (5)

La Figura 02, muestra valores promedio de los halos de inhibición de la comparación múltiple (Tukey) de tres concentraciones del colutorio de extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* L "silkau" sobre bacterias orales con ANOVA ( $p < 0.05$ ), el mejor halo de inhibición se obtuvo con el 10 % del colutorio con 15.1 mm diámetro mientras que el colutorio de 1 %, presentó 8.0 mm de diámetro de inhibición y el de 5 % tuvo 10.1 mm de halo encontrándose que la concentración al 10 % es el que más se aproxima al estándar vancomicina, la cual nos da 16.6 mm de promedio de diámetro de halo de inhibición

Moromi, encontró que la efectividad de la infusión al 10 por ciento a base de *Camelia sinensis* "té verde" frente a flora salival mixta posee actividad antibacteriana frente a bacterias orales. En su estudio compara la efectividad antibacteriana in vitro frente a amoxicilina. (16)

Deba, encontró que el aceite de las hojas y flores de *Bidens pilosa* L posee actividad antibacteriana frente a bacterias gram-positivas y gram-negativas teniendo mejor efecto en las gram-negativas. (8)

Otro estudio demostró que la actividad antimicrobiana in vitro de *Plantago major* L, *Erythroxylum novogranatense*, y *Camellia sinensis* sobre bacterias de importancia estomatológica (*Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Actinomyces viscosus*, *Prevotella melaninogenica* y *Fusobacterium nucleatum*) en concentraciones de 25 y 50 µg/ml. (17)

Como se observa en los trabajos que mencionamos líneas arriba, existe plantas medicinales con propiedades antibacterianas que podrían ser utilizados en forma cásera en patologías de la cavidad oral y prevención de la caries, asimismo, reportamos que la planta *Bidens pilosa* L "silkau" tienen propiedades antibacterianas frente a bacterias orales

Los taninos son capaces de precipitar ciertas molécula (proteínas, alcaloides, gelatina) dicha capacidad es la base de su poder antibacteriano. Además menciona la propiedad antibacteriana antivirica y anti fúngicas de los taninos. (18) Los taninos, tienen la capacidad de precipitar las proteínas, originando un efecto antibacteriano.

La presencia de compuestos fenólicos al ser hidrosolubles son los que están presentes en el colutorio formulado y además los taninos cuya propiedad es precipitar las proteínas al actuar sobre las bacterias orales en general ocasionan su destrucción. Ambas sustancia son responsables de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Bidens pilosa* L "silkau"

La Figura 03, reporta los promedios de halos de inhibición de cinco concentraciones diferentes del colutorio a base de extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* L "silkau" sobre bacterias orales, se puede apreciar que la concentración al 10% nos dio como promedio 15,1 de diámetro de halo de inhibición siendo la más óptima con respecto a las otras concentraciones y los resultados de las concentraciones de 15% y 20% tienen valores próximos como son 15,08 y 15,04 mm respectivamente de promedio de halos de inhibición.

## VI. CONCLUSIONES

1. Se determinó que los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* L "silkau", con fuerte presencia son: triterpenos, esteroides, taninos, fenoles, aceites, grasas y saponinas, y moderada presencia son: resinas, lactonas, cumarinas y flavonoides.
2. El colutorio a base de extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* L "silkau" tiene actividad antibacteriana sobre bacterias orales.
3. La concentración del colutorio al 10 por ciento presentó mejor actividad antibacteriana contra bacterias orales.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mesa Temática de Salud Bucal-Foro Salud Lima. V Conferencia nacional 2011. [citado 2013 julio 16]. Disponible en: [mesadesaludbucal.blog-spot.com/2012\\_01\\_01\\_archiv\\_Htm](http://mesadesaludbucal.blog-spot.com/2012_01_01_archiv_Htm)
2. Murray P, Rosenthal K. Microbiología Médica, 5ta edición. España: Editorial Elsevier.2006.
3. Madigan M. Biología de los microorganismos. Ed 10ma. España: edit. Prentice Hall.2003.
4. García P. Guía de prácticas de biotecnología. UNSCH. 2006
5. Saico R. Densidad poblacional de *Streptococcus mutans* en saliva y su relación con la caries dental, en niños en edad escolar del Asentamiento Humano Madre Covadonga [Tesis UNSCH]. Ayacucho. Facultad de Ciencias Biológicas. 2002.
6. Cordero, K. Estudio fitoquímico y su utilización en medicina tradicional de *Bidens pilosa* L "silkau" [Tesis-UNSCH]. Ayacucho. Facultad de Ciencias Biológicas.1991.
7. Gonzales, V. Actividad diurética del extracto atomizado de *Bidens pilosa* L "silkau" en cobayos. [Tesis UNSCH]. Ayacucho. Facultad de Ciencias Biológicas. 2003.
8. Deba Dang Xuan, Masaaki Yasuda Shinkichi Tawata. Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *biens pilosa* Linn var *Radiata*. [citado 2011diciembre 13] Disponible en: [193.146.160.29/gtb/sod/.../10311122\\_Deba.pdf](http://193.146.160.29/gtb/sod/.../10311122_Deba.pdf)
9. Gorriti A, Rosa Zárate R, Jurado B. Bioensayos en especies de *Bodens* con actividad terapéutica Ciencia e Investigación: Vol. 1 Nº 2 - Diciembre 1998 [citado 2012 Sep 23]. disponible en: [sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/Ciencia/V01\\_N2/bidenshtm](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/Ciencia/V01_N2/bidenshtm)
10. Arroyo, J., Bonilla, P., Ráez, E., Suárez, S., Palomino, R., Terán, S., Villarreal, A., Marín, M., Chenguayén, J., Justil, H. Compuestos fenólicos de la fracción metanólica de *Bidens pilosa*, sobre la neoplasia gástrica, inducida en ratas. Anales de la Facultad de Medicina, Norteamérica, 68, feb. 2013. [Fecha de acceso: 16 Sep. 2013]. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/anales/articulo/view/1220>.
11. Meneses R. Marcha fitoquímica y evaluación de la actividad cicatrizante de tallos y hojas de *Bidens pilosa* L "silkau" [Tesis UNSCH]. Ayacucho. Facultad de Ciencias Biológicas. 2001
12. Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el Método de Disco Difusión, Editorial del I.N.S. Serie de Normas Técnicas Nº 30 Lima.2002.
13. Liébana, J. Microbiología oral. 2da ed. España. Editorial Mac Grawn Hill. 2002
14. Marcantoni, M. Ecología de la cavidad oral. Argentina Editorial panamericana.1999.
15. Palomer R Leonor. Caries dental en el niño: Una enfermedad contagiosa. Rev. chil. pediatr. [revista en la Internet], 2006 Feb 77(1): 56-60. [citado 2013 Sep 16]. Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0370-](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-)
16. Moromi N, Martínez C, Gutiérrez G, Ramos D, Núñez M, Burg J, Tello J, Trevejo I. Efecto antimicrobiano in vitro de la *Camelia sinensis* sobre bacterias orales, Revista Odontología Sanmarquina. Facultad de Odontología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú. 2007. Vol. 10 (2).