

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**

**COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO
ENTRE DOS CONCENTRACIONES DE EXTRACTO
HIDROETANÓLICO DE *ALLIUM SATIVUM* (AJO) SOBRE
CEPAS DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS* ATCC 29212.**

TRUJILLO - 2018.

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
CIRUJANO DENTISTA**

AUTOR

PONCIANO VALDEZ, LUIS ALEXANDER

ORCID: 0000-0002-3109-2230

ASESOR

HONORES SOLANO, TAMMY MARGARITA

ORCID: 0000-0003-0723-3491

TRUJILLO – PERÚ

2020

1. TÍTULO

**COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO
ENTRE DOS CONCENTRACIONES DE EXTRACTO
HIDROETANÓLICO DE *ALLIUM SATIVUM* (AJO) SOBRE
CEPAS DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS* ATCC 29212.**

TRUJILLO - 2018.

2. Equipo de Trabajo

AUTOR

Ponciano Valdez, Luis Alexander

ORCID: 0000-0002-3109-2230

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Estudiante de Pregrado,
Trujillo, Perú

ASESOR

Honores Solano, Tammy Margarita

ORCID: 0000-0003-0723-3491

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de la
Salud, Escuela Profesional de Odontología, Trujillo, Perú

JURADO

Pairazamán García, Juan Luis

ORCID: 0000-0001-8922-8009

Morón Cabrera, Edwar Richard

ORCID: 0000-0002-4666-8810

Córdova Salinas, Imer Duverli

ORCID: 0000-0002-0678-0162

3. Hoja de firma del jurado y asesor

Mgtr. Pairazamán García, Juan Luis

PRESIDENTE

Mgtr. Morón Cabrera, Edwar Richard

MIEMBRO

Mgtr. Córdova Salinas, Imer Duverli

MIEMBRO

Mgtr. Honores Solano, Tammy Margarita

ASESOR

Agradecimiento

Agradezco primeramente a Dios por permitirme acabar este arduo camino profesional y a mis padres que siempre estuvieron ahí para apoyarme en lo altos y bajos momento que pude haber pasado en el camino.

Agradezco a mi hermana Marianela Anely Ponciano Valdez quien estuvo siempre presente en el trayecto de mi carrera universitaria dándome fuerza de aliento y motivación para seguir adelante y nunca rendirme en cualquier adversidad que se pudo presentar.

Dedicatoria

A mi familia por el apoyo incondicional que me brindaron cada día, a pesar de estar lejos de mí.

A mis hermanas que estuvieron en todo momento apoyándome en esta ardua labor universitario a lo largo de estos 5 años acompañándome día a día.

4. Resumen

El estudio tuvo como objetivo comparar el efecto antibacteriano entre dos concentraciones de extracto hidroetanólico de *Allium sativum* sobre cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. El tamaño de la muestra estaba conformada por 16 repeticiones por cada concentración frente a cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, los cuales se mantuvieron en caldo BHI y en Agar Tripticosa Soya (TSA), para luego incorporarlos en placas petri que contenían agar de Mueller Hinton. Se elaboró dos concentraciones de extracto hidroetanólico de *Allium sativum* (ajo) al 70 y 100% y controles positivos (hipoclorito de sodio al 4% y clorhexidina al 2%), control negativo (etanol al 70°), las cuales fueron enfrentadas a la bacteria *Enterococcus faecalis* mediante el método de difusión de KIRBY BAUER. Se encontró que el extracto hidroetanólico al 70% mostró formación de halos de inhibición con un promedio de 9.9 mm y al 100% halo con un promedio de 14.6 mm, mientras que los controles positivos mostraron también efectividad antibacteriana frente a esta bacteria. Se aplicó la prueba ANOVA mostrando, diferencia estadística significativa ($p=0.00<0.05$), entre las dos concentraciones de extracto hidroetanólico. Se concluyó que el extracto hidroetanólico al 100% presenta mayor efecto antibacteriano frente al *Enterococcus faecalis* que al 70%.

Palabras claves: *Allium sativum*, antibacteriano, *Enterococcus faecalis*, extracto.

Abstract

The objective of the study was to compare the antibacterial effect between two concentrations of hydroethanolic extract of *Allium sativum* on *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 strains. The sample size consisted of 16 repetitions for each concentration against *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 strains, which they were kept in BHI broth and in Trypticase Soya Agar (TSA), to later incorporate them in petri dishes containing Mueller Hinton agar. Two concentrations of hydroethanolic extract of *Allium sativum* (garlic) at 70 and 100% and positive controls (sodium hypochlorite at 4% and chlorhexidine at 2%), negative control (ethanol at 70 °), which were compared to the *Enterococcus faecalis* bacteria using the KIRBY BAUER diffusion method. It was found that the hydroethanolic extract at 70% showed inhibition halo formation with an average of 9.9 mm and at 100% halo with an average of 14.6 mm, while the positive controls also showed antibacterial effectiveness against this bacterium. The ANOVA test was applied showing a statistically significant difference ($p = 0.00 < 0.05$), between the two concentrations of hydroethanolic extract. It was concluded that the 100% hydroethanolic extract has a greater antibacterial effect against *Enterococcus faecalis* than 70%.

Keywords: *Allium sativum*, antibacterial, *Enterococcus faecalis*, extract.

5. Contenido

| | |
|--|-----|
| 1. Título | ii |
| 2. Equipo de trabajo..... | iii |
| 3. Hoja de firma del jurado y asesor..... | iv |
| 4. Resumen y abstract | vii |
| 6. Índice de tablas y graficos..... | x |
| I. Introducción..... | 1 |
| II. Revisión de la literatura..... | 3 |
| III. Hipótesis | 19 |
| IV. Metodología..... | 20 |
| 4.1. Diseño de la investigación..... | 20 |
| 4.2. Población y muestra..... | 20 |
| 4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores..... | 22 |
| 4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos | 23 |
| 4.5. Plan de análisis | 27 |
| 4.7. Principios éticos y legales | 30 |
| V. Resultados | 31 |
| 5.1. Resultados | 31 |
| 5.2. Análisis de los Resultados | 34 |
| VI. Conclusión | 38 |
| Aspectos Complementarios | 39 |
| Referencias bibliográficas..... | 40 |
| Anexos | 46 |

6. Índice de tablas

Tabla 1: Evaluación del efecto antibacteriano de las diferentes concentraciones del extracto hidroetanólico del *Allium sativum* sobre cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. ULADECH, Trujillo – 2018.....31

Tabla 2: Comparación del efecto antibacteriano de las diferentes concentraciones del extracto hidroetanólico de *Allium sativum* sobre cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.....33

Índice de gráficos

| | |
|--|----|
| Gráfico 1: Efecto antibacteriano entre dos concentraciones del extracto hidroetanólico de <i>Allium sativum</i> al 70% y 100% sobre cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212..... | 32 |
|--|----|

I. Introducción

Actualmente el fracaso endodóntico se considera desde el punto de vista odontológico una traba imperiosa siendo la principal causa el dejar bacterias en el interior de un conducto.¹

Por ello la reducción y eliminación de la flora bacteriana en el interior del conducto radicular no sólo depende de una buena preparación biomecánica sino también, de la utilización de irrigantes químicos antes y durante de la desinfección de éste.²

El principal microorganismo oportunista en los fracasos endodónticos es *Enterococcus faecalis*, esta bacteria posee una apariencia de coco en par o cadena, siendo gram positiva anaerobia facultativa, inmóvil no esporulada , teniendo una incidencia del 90% en los dientes con tratamiento de conducto, ya que posee la capacidad de resistencia luego de realizar un tratamiento endodóntico .¹

Ha sido demostrado y estudiado que se puede encontrar en el interior de los conducto radiculares post – tratamiento endodóntico, teniendo la capacidad de perdurar y desarrollarse en ambientes que son tóxicos ,pudiendo tolerar las sustancias químicas como lo son los irrigantes endodónticos, aparte de los procesos biomecánicos realizados previos a la obturación y sellado del conducto .²

El hipoclorito de sodio es una sustancia altamente alcalina y con potente olor a cloro, que posee la capacidad de disolver tejido necrótico y residuos orgánicos, como los detritos que se hallan en el interior conducto radicular, generado mediante la preparación biomecánica, siendo un potente agente antimicrobiano.³

Actualmente en Perú ya se está utilizando las plantas medicinales como tratamiento en la medicina tradicional y la flora, ofreciendo grandes alternativas en descubrimiento de nuevos componentes con acción antimicrobiana; como la obtención de irrigantes a bases de plantas naturales, que eliminen o reduzcan dicho microorganismo en el interior del conducto causante de este defecto.³

Allium sativum es bulbo, cuyas hojas y contenido son crudo y ligeramente picante emanando un olor fuerte característico de ello, estudios han demostrado su actividad antimicrobiana.⁴

Se han ido realizando estudios en donde se demuestra presunta actividad inhibitoria sobre bacterias gram- negativas y gram-positivas como *Streptococcus mutans*, *P. gingivales*, indicando su eficacia de detener el crecimiento de ciertas bacterias patógenas orales .⁴

Por lo tanto esta investigación tiene como objetivo comparar efecto antibacteriano entre dos concentraciones de extracto hidroetanólico de *Allium sativum* sobre cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 2912 , siendo su diseño cuantitativo, comparativo y transversal, cuya muestra fue 16 placas petri contaminadas con *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 para cada grupo de tratamiento, para este enfrentamiento se utilizó la técnica de difusión en disco, concluyendo que el extracto hidroetanólico de ajo si tuvo efecto antibacteriano al 70 % y 100% mostrándose la formación de halos inhibición alrededor de las placas petri.

II. Revisión de la literatura

2.1. Antecedentes de la investigación

Internacionales

Budiardjo S, et al.⁵ (Indonesia, 2019). “Eficacia del extracto de ajo frente a la viabilidad del *Enterococcus faecalis*”. En este estudio se propuso analizar la eficacia del extracto de ajo contra la viabilidad de *E. faecalis* de aislamientos clínicos de conductos radiculares primarios no vitales. Métodos: Se utilizó el ensayo MTT para determinar la viabilidad de *E. faecalis* después de la exposición a concentraciones crecientes de extracto de ajo (10%, 25%, 50% y 100%) y clorhexidina al 2%. (CHX) 2% como control positivo. Resultados: El análisis se realizó mediante la prueba de Kruskal-Wallis y la prueba post hoc para comparaciones múltiples a un nivel de significancia de 0.05. En todas las concentraciones, los extractos de ajo disminuyeron la viabilidad de *E. faecalis*. No encontramos diferencias significativas entre los valores de viabilidad para extractos de ajo al 25%, 50% y 100% ($p > 0.05$); sin embargo, fueron significativamente diferentes del extracto al 10% y del CHX al 2% ($p < 0.05$), ambos con valores de viabilidad más bajos. Conclusión: Nuestros resultados mostraron que el extracto de ajo fue efectivo para disminuir la viabilidad de *E. faecalis*.

Hugar S, et al.⁶ (India, 2017). “Evaluación comparativa in vitro de la eficacia de la capacidad de desinfección del aceite de ajo, aceite de neem, aceite de clavo y aceite de tulsi con autoclave en endodoncia K probados contra *Enterococcus faecalis*”. Para

evaluar comparativamente la eficacia de la capacidad de desinfección del aceite de ajo, el aceite de neem, el aceite de clavo y el aceite de tulsi con autoclave en los registros de endodoncia K probados contra *Enterococcus faecalis*. Se expusieron cincuenta archivos de endodoncia K al microorganismo de prueba y se verificó su capacidad desinfectante mediante tres métodos diferentes. El aceite de ajo, el aceite de clavo, el aceite de tulsi y mostraron una eficacia considerable contra *E. faecalis*, excepto el aceite de neem. Se concluye que el aceite de ajo, el aceite de clavo y el aceite de tulsi son un desinfectante eficaz y pueden utilizarse como una alternativa a la autoclave contra el microorganismo de prueba.

Pavovic DR, et al.⁷ (Serbia, 2017). “Influencia de diferentes extractos de ajo silvestre (*Allium ursinum*) en el sistema gastrointestinal: propiedades espasmolíticas, antimicrobianas y antioxidantes”. En este estudio se ha cuantificado y comparado las actividades espasmolíticas, antimicrobianas y antioxidantes, de sus diferentes extractos de hojas. En su método se analizaron para determinar la actividad espasmolítica en el íleon de rata aislada, la actividad antimicrobiana en bacterias y hongos Gram-positivos y Gram-negativos seleccionados mediante el método de microdilución y la capacidad antioxidante mediante el ensayo de eliminación de radicales DPPH. Se encontró en sus resultados que los extractos de ajo silvestre disminuyen el tono basal ileal. Como la relajación de las contracciones inducidas por K + fue similar a la causada por la papaverina, el efecto espasmolítico observado fue probablemente mediado por la inhibición del canal de Ca²⁺. Conclusión todas las muestras mostraron cierto potencial antioxidante y

una fuerte actividad antimicrobiana contra las cepas enteropatógenas probadas (*Salmonella enteritidis* fue la más sensible, seguida de *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* y *Enterococcus faecalis*).

Sealih J, et al.⁸ (Irak, 2016). “Actividad antibacteriana del ajo contra *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis* resistentes a múltiples fármacos en la ciudad de Duhok”. En este estudio se recolectaron cuarenta aislamientos (40) de *S. aureus* de pacientes hospitalizados en el hospital universitario Azadi y se recolectaron veinte aislamientos (20) de *E. faecalis* de diferentes clínicas dentales privadas en la ciudad de Duhok. Los aislados se identificaron mediante métodos de rutina. La actividad antibiótica del ajo se realizó utilizando extractos de ajo en diluciones seriadas con las concentraciones de (100, 75, 50, 25, 10 y 5%) por ensayo de difusión en pozos de agar. Resultados: La potencia de los extractos de ajo sobre *S. aureus* varía entre (15-36) mm de diámetro de zona de inhibición, mientras que la de *E. faecalis* varía entre (14-33) mm de diámetro de zona de inhibición; sin embargo, *S. aureus* fue más sensible que *E. faecalis*. La zona de inhibición se incrementó al aumentar la concentración de extractos; la concentración (100%) de extracto de ajo tuvo el efecto inhibitor más alto sobre la zona de inhibición (36 mm) para *S. aureus* y sobre la zona de inhibición (33 mm) para *E. faecalis*. Conclusión: La actividad antimicrobiana del extracto de ajo indica que existe idoneidad para ser utilizado como importantes medicamentos determinados, por lo que el ajo es activo para servir como agente antibacteriano frente a bacterias multirresistentes.

Panchi M, et al.⁹ (Ecuador, 2016). “Efecto antimicrobiano de los extractos de las hojas de tomillo (*Thymus vulgaris*) y de las pepas de ajo (*Allium sativum*) sobre las cepas de *Enterococcus faecalis*. Estudio in vitro”. En este estudio se comprobó la acción antimicrobiana de la síntesis hidroalcohólicos tanto del tomillo (hojas) y ajo (pepas) , la obtención de los extractos hidroalcohólicos se realizó por el método de percolación , dando resultados tras el análisis de halos de inhibición en donde se observó que estos tenían un aproximado de 10 mm, en donde se estableció de la siguiente manera , que la síntesis hidroalcohólico de ajo a 100% tuvo un efecto antimicrobiano mayor , mostrando un halo de 9.38 mm , mientras que la síntesis hidroalcohólico del ajo al 75% presento un halo de 6.5 mm y la síntesis hidroalcohólico de tomillo tubo un promedio de 6 mm con respecto a sus concentraciones que fue 75% y 100% .Se concluyó que el extracto de tomillo al 75% y 100% no tuvo ningún efecto sobre la bacteria, pero el extracto de las pepas de ajo al 100% tuvo una efecto limite frente al *E. faecalis*.

Birring OJ, et al.¹⁰ (India, 2015). “Eficacia antimicrobiana del extracto de *Allium sativum* contra el biofilm de *Enterococcus faecalis* y su penetración en la dentina de la raíz: un estudio in vitro”. En este estudio in vitro se cultivó *E. faecalis* y enfrentó con el extracto de ajo en tres concentraciones (10%, 40% y 70%). Estos grupos se sometieron a ensayo de viabilidad microbiana y análisis microscópico de fluorescencia, siendo la más efectiva la concentración del 70% demostrando una eficacia antimicrobiana similar a la del 5,25% de NaOCl. En términos de penetración de dentina, no se encontró diferencias significantes entre el extracto de ajo y NaOCl.

Se concluyó que el extracto de ajo tiene el potencial de servir como un irrigador herbal alternativo del conducto radicular, ya que es un agente antimicrobiano eficaz y biocompatible con buena propiedad de penetración dentinaria.

Karkare, SR. et al.¹¹ (India, 2015). “Evaluación comparativa de la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de Aloe vera, ajo e hipoclorito de sodio al 5% como irrigantes del conducto radicular contra *Enterococcus faecalis*: un estudio in vitro”. El objetivo de este estudio fue comparar la actividad antimicrobiana de extracto hidroalcohólico saturado y diluido (1: 1) de Aloe vera, ajo y NaOCl al 5% contra *E. faecalis* utilizando el método de difusión de agar comúnmente utilizado. Resultados: El extracto hidroalcohólico saturado de A .vera y ajo mostró la zona de inhibición mediante halos de 13 mm y 10.7 mm contra *E. faecalis*. El NaOCl, que se considera un estándar de oro, también mostró zonas de inhibición más altas con un halo de formación de 16.33 mm.

Kandaswam, et al.¹² (Chile, 2013). “Desinfección de túbulos dentinales con clorhexidina al 2%, extracto de ajo e hidróxido de calcio contra *Enterococcus faecalis* mediante el uso de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real: estudio in vitro”. Para este estudio se realizó la prueba de difusión de Agar para evaluar la concentración mínima inhibitoria del extracto de ajo contra *E. faecalis* , seleccionando 40 dientes premolares mandibulares humanos extraídos, luego se cortó el tercio medio de la raíz usando un disco rotativo de diamante para posteriormente

ser inoculadas con *E. faecalis* por 21 días y enfrentándolo así con el extracto de ajo, Se encontró que los valores del ciclo umbral (Ct) de CHX al 2% eran 32,4, el extracto de ajo era 27,5 y el Ca (OH) 2 era 25,6. Conclusión: Un total de 2% de CHX mostró la máxima eficacia contra *E. faecalis*, seguido del extracto de ajo y Ca (OH).

Nacionales

Percca H, et al.¹³ (Lima, Perú, 2014). “Actividad antimicrobiana del extracto de *Allium sativum* y del digluconato de clorhexidina en aislamientos clínicos de *Enterococcus faecalis*”. En este estudio se tomaron 41 muestras de pacientes con infecciones endodónticas primarias, que fueron atendidos en el Servicio de Endodoncia del Departamento de Odontostomatología del Hospital Nacional Hipólito Unanue, y se aislaron 14 cepas de *Enterococcus faecalis*. Se determinó la concentración mínima inhibitoria por el método de macrodilución en caldo; también se determinó la concentración mínima bactericida mediante subcultivación en agar. Para el análisis de los datos se utilizó la prueba t de Student para muestras relacionadas. Resultados: Se observó que los valores de la concentración mínima inhibitoria del extracto el extracto de *Allium sativum* y del digluconato de clorhexidina se encontraban entre 2 343,75 µg/ml hasta 9 375 µg/ml y 2,5 µg/ml hasta 5 µg/ml respectivamente; además, se determinó que no existe diferencia entre la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida para el extracto de *Allium sativum*; sin embargo, si existe una diferencia significativa (p=0.029) entre estos valores para el digluconato clorhexidina. Conclusión: El extracto de *Allium sativum* y el digluconato de clorhexidina presentan actividad antimicrobiana en aislamientos clínicos de *Enterococcus faecalis*

2. 2. 2. Bases teóricas

El fracaso endodóntico es uno de los factores iniciales de resistencia microbiana asociada a la infección en la parte interna de los conductos, dado a que estos microorganismos patógenos involucrados sobrevivieron a las maniobras mecánicas y químicos mediante el tratamiento o fueron capaces de llegar a invadir la parte interna del diente llegando a los canales del conducto como resultado de las malas técnicas como el sellado marginal coronario.¹⁴

Los microorganismos hallados en los conductos radiculares luego de haber fallado el tratamiento de endodoncia, estará conformado por un reducido número de especies como anaerobias facultativas entre la más frecuente el *Enterococcus faecalis* siendo este el microorganismo oportunista causante de este fracaso.¹³

2.2.1 *Enterococcus faecalis*

Es una bacteria patógena que forma parte de la familia Enterococcaceae del orden lactobacillales, que actualmente contiene treinta y cinco especies reconocidas incluido *Enterococcus faecalis*.^{15, 16}

Este es un coco gram (+), anaerobio facultativo, inmóvil y no esporulado. Su dimensión celular fluctua entre 0,5 y 0,8 μm siendo residente principal tracto gastrointestinal del ser humano. Su temperatura oscila entre los 35°C, pero sin embargo se ha evidenciado su desarrollo entre 10°C y 45 °C.¹⁶

Los enterococos poseen una capacidad notable para adaptarse a diferentes entornos y tienen una propensión a adquirir resistencia a los antibióticos, lo que ha llevado a la aparición de variantes resistentes a múltiples fármacos en todo el género.¹⁶

Mayormente se le haya en el tracto gastrointestinal, siendo éste el causante de padecimientos mortales en el ser humano ya que su posibilidad de resistencia y supervivencia en ambientes tóxicos y a medicamentos en donde se le encuentra colonizando, pero también puede actuar como un patógeno oportunista y translocarse a través de la barrera mucosa para causar infecciones sistémicas. Su incidencia en el interior del conducto se le asigna como el principal causante en los fracasos endodónticos de un 90 % de sucesos.¹⁷

Una de la particularidad más importante es su resistencia para crecer y sobrevivir en ambientes que puedan ser tóxico para él como también para muchas bacterias, estas bacterias patógenas pueden sobrevivir a altas densidades de sales como 6,5% de cloruro de sodio y ambientes y temperaturas extremas (15-60°C) pudiendo ser resistente al colorante como azul de metileno al 0,1% 19.¹⁷

2.2.1.1 Patogenicidad

Es a causa de la perduración y crecimiento de este microorganismo en el interior del conducto radicular al tener alto grado de resistencia frente a los medicamentos y antibióticos como también a las preparaciones biomecánicas y químicas realizadas en el tratamiento de conducto siendo el *Enterococcus faecalis* el causante de muchas enfermedades en el ser humano.^{17, 18}

2.2.1.2 Factor de virulencia

Esta bacteria puede sobrevivir, crecer y perdurar en microambientes tóxicos mediante sus propios nutrientes.

Entre las causas más resaltantes tenemos lo siguiente:

El principio de agregación, que le da la facilidad de penetrar y acoplarse a las paredes del conducto como del hospedador, internándose asimismo mediante prótido elaborada por el plásmido dándole al *Enterococcus faecalis* esta facilidad. Por lo que la Adhesinas y prótidos: se halla impregnadas en la pared celular del microorganismo adhiriéndose a su matriz extracelular y así formar una biopelícula enterocócicas, mientras que el ácido lipoteicoico: ayuda a transferir a los plásmidos a ayudar a complementarse la virulencia bacteriana, para su obtención de superóxido extracelular: son mayormente radicales de oxígeno que ayudan al *E. faecalis* a involucrarse en el deterioro tisular y celular dando como resultado las respuestas inflamatorias, también la Gelatinasa: es una metalo-proteinasa que interactúa en la adherencia de la bacteria en túbulos dentinarios, ya que muchos estudios no lo manifiesta completamente y la Hialuronidasa: Es una enzima que interviene ayudando a la descomposición del tejido tisular, provocando la diseminación bacteriana y sus resultados metabólicos como toxinas; extendiéndose y dañando los tramas del hospedador, ya que la Citolisinas: es una enzimas que es segregada del *E. faecalis*, la cual participa en la destrucción de las células de defensa y bacterianas, minimizando la actividad terapéutica antiinflamatoria y antibacteriana.^{16, 17, 18}

2.2.1.3 Irrigantes en endodoncia

Después de la preparación biomecánica, el tejido de la pulpa residual, las bacterias y los fragmentos de dentina pueden persistir en las irregularidades del sistema de conductos radiculares, que cubren las paredes del canal o se alojan en los túbulos dentinales incluso después de una instrumentación cuidadosa. La presencia de la

capa de frotis y los residuos disminuye la capacidad de penetración de los apósitos intracanales y también evita la adaptación completa de los materiales de obturación. Un irrigante que podría eliminar completamente la capa de frotis contribuiría a reducir la microbiota y las endotoxinas asociadas y disminuiría el potencial de las bacterias para sobrevivir y reproducirse.¹⁴

La selección de irrigantes es muy importante porque pueden actuar como lubricantes durante la instrumentación, eliminar los restos y el tejido de pulpa necrótica y ayudar a eliminar o neutralizar los microorganismos y sus productos derivados.¹⁴

Estas deben de cumplir con los siguientes requisitos: humedecer de la paredes del conducto y la expulsión de residuos mediante el lavado, también la eliminación de los microorganismos patógenos y el poder disolver la sustancia orgánica pero el también el remover y ablandar la dentina y el llegar a zonas inaccesibles.¹⁴

2.2.1.4 Hipoclorito de sodio (NaOCl)

El irrigante endodóntico más popular es el hipoclorito de sodio (NaOCl). El gran uso de NaOCl está relacionado con sus excelentes propiedades fisicoquímicas, antibacterianas y de disolución de tejidos. Sin embargo, se sabe que es altamente irritante para los tejidos periapicales cuando se usa en altas concentraciones. Tiene características indeseables como toxicidad, riesgo de enfisema, potencial alérgico y olor y sabor desagradables.³

El hipoclorito de sodio es una solución irrigante que se usa en gran medida debido a una combinación de varias propiedades: acción antimicrobiana, capacidad de disolución del tejido y compatibilidad biológica aceptable en soluciones menos

concentradas. El hipoclorito de sodio actúa en sitios enzimáticos esenciales para la viabilidad bacteriana, promoviendo la inactivación microbiana irreversible debido a la acción de los iones hidroxilo y la cloración. La disolución del tejido orgánico ocurre durante la saponificación, cuando el hipoclorito de sodio degrada los ácidos grasos y los lípidos.³

El cloro es un oxidante fuerte; tiene propiedades antimicrobianas y es capaz de inhibir las enzimas bacterianas. Esto resulta en la oxidación irreversible del grupo sulfhidrilo (-SH), que es esencial para la función de las enzimas bacterianas.

La acción antibacteriana del NaOCl se puede verificar en función de sus propiedades físico-químicas y su reacción con el tejido orgánico, actuando como un disolvente para compuestos orgánicos y lípidos.³

2.2.1.5 Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA)

Es un quelante que le da mayor facilidad de desintegración dentinaria, siendo un agregado en la preparación biomecánica del canal radicular, aplicado en endodoncia para desintegrar la dentina y su barro centenario.¹⁹

Ayuda a limpiar y desinfectar la pared de la dentina de la raíz, ya que elimina los restos de dentina que es un resultado de la formación del canal durante el proceso de uso del instrumento y también facilita la acción del medicamento utilizado en el interior del canal ya que facilita el ensanchamiento de conductos y túbulos dentinarios así como la permeabilidad de la dentina y a la vez condiciona que la pared conducto radicular tenga mayor adherencia a los materiales de obturación.¹⁹

2.2.1.6 Clorhexidina al 2%

Es una bisbiguanida catiónica y es un agente quimioterapéutico mínimamente soluble en agua, su actividad antimicrobiana, esta capacidad de la clorhexidina para adsorber y adherirse a superficies con carga negativa es fundamental para su éxito como agente antimicrobiano. La molécula de clorhexidina tiene la capacidad de adsorberse a sustratos aniónicos (con carga negativa) como la hidroxiapatita, la película, las glucoproteínas salivales y las membranas mucosas que ejercen un efecto bactericida inmediato. Esta propiedad de la clorhexidina se conoce como su sustantividad y es lo que diferencia a la clorhexidina de muchos otros agentes antimicrobianos.²⁰

El gluconato de clorhexidina se ha usado ampliamente en odontología, mostrando buenos resultados en el control de caries y como ayuda en la terapia periodontal. Además de tener la capacidad de matar una amplia variedad de microorganismos que incluyen bacterias grampositivas y gramnegativas (aerobios y anaerobios), así como hongos que incluyen levadura, pudiendo también disminuir la proliferación de microorganismos patógenos orales, ya que posee un amplio espectro bacteriostático o bactericida dependiendo de las concentraciones de este, causando la muerte celular al precipitar el contenido citoplásmico de la célula microbiana.²⁰

Aparte de su actividad antibacteriana, NaOCl y CHX tienen una gran ventaja. El NaOCl posee la mayor capacidad de disolución de tejidos entre los irrigantes del conducto radicular mientras que CHX tiene una propiedad única titulada

sustantividad, lo que significa que las moléculas de CHX unidas a hidroxiapatita se liberan durante un tiempo prolongado aproximadamente 12 semanas.²⁰

2.2.2 *Allium sativum*

El ajo integra a la familia de las liliáceas. Esta planta posee un bulbo sólido, formado por bulbillos limitados por dos caras planas y una convexa, puntiagudos en ambos extremos. Actuando como agentes antibacterianos y antivirales entre muchas otras propiedades, ya que contiene varios constituyentes químicos biológicamente activos, como la aliina, la alicina, la aliinasa, la S-alilcisteína y otros compuestos orgánicos de azufre, siendo el Alliin es un componente natural de sulfóxido de ajo fresco. Es un derivado del aminoácido cisteína, que se convierte en alicina por la enzima aliinasa cuando los bulbos se trituran. La alicina es un precursor de los compuestos de azufre, responsables del olor y algunas de las propiedades de actividad antimicrobiana.²¹

El uso terapéutico del ajo ha sido reconocido como un potencial valor medicinal para diferentes microorganismos. Por ejemplo, el ajo ha sido un agente eficaz para controlar a bacterias gram positivas como gram negativas y entre ellas tenemos *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus* resistentes a la meticilina entre otros y por sus diversas actividades biológicas, incluidos los efectos anticancerígenos, antiteroscleróticos, antitrombóticos, antimicrobianos, antiinflamatorios y antioxidantes.^{21,22}

2.2.2.1 Propiedades del *Allium sativum*

La mayoría de los efectos biológicos de *Allium* están relacionados con los compuestos que contienen azufre, los “tiosulfinatos”, típicos de *Allium* y responsables de su aroma y sabor picantes característicos. Sin embargo, estos metabolitos son relativamente inestables, lo que justifica el desarrollo de métodos analíticos con los que se puedan controlar los cambios en su estructura, es decir, en respuesta a los métodos de procesamiento. En comparación con los compuestos de azufre, otros constituyentes, las saponinas y los flavonoides que se encuentran en *Allium* son más estables a las condiciones de cocción y almacenamiento.²¹

2.2.2.2 Antibacteriano

Es gracias a la alicina y otros compuestos de azufre son los principales compuestos responsables del efecto antimicrobiano exhibe un gran efecto de su actividad, esto se debe a su relación química en el grupo tiol y las diferentes enzimas, ya que también ha sido demostrado que este ejerce una inhibición en la flora intestinal.²²

2.2.2.3 Antifúngicas

Se ha demostrado que la alicina (dialil-ditiosulfinato), que es producida por la enzima aliinasa del ajo a partir de la aliina, tiene una especificidad antifúngica de amplio rango. Demostrado su capacidad contra ciertos microorganismos y hongos como *C. albicans*, *Aspergillus niger*, *Cándida*, *Torulopsis*, *Trichophyton*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Aspergillus Trichosporon* y *Paracoccidioides*, siendo estos sensibles a los componentes de ajos mostrando la disminución del oxígeno y disminuyendo el crecimiento e inhibiendo la síntesis de proteínas, lípidos y ácido nucleico ocasionando daños a la membrana.²²

2.2.2.4 Antioxidante

Esta propiedad ayuda a destruir las partículas de radicales libres que pueden dañar las membranas celulares y el ADN, y pueden contribuir al proceso de envejecimiento, así como al desarrollo de una serie de afecciones, como las enfermedades cardíacas y el cáncer. Los antioxidantes neutralizan los radicales libres y pueden reducir o incluso ayudar a prevenir parte del daño que causan con el tiempo. La actividad antioxidante del *Allium sativum* es bien conocido y se debe principalmente a compuestos organosulfurados inestables e irritantes. .

Esta propiedad antioxidante está involucrada en la protección contra la oxidación del ácido desoxirribonucleico (ADN), los lípidos y las proteínas por ROS, que desempeña un papel importante en diversas enfermedades, como el envejecimiento, el cáncer, la inflamación y la neurodegeneración .²²

2.2.2.5 Antiinflamatorio

Se ha demostrado que los extractos de ajo ejercen efectos antiinflamatorios. En un estudio, el tratamiento con ajo atenuó significativamente la inflamación y las lesiones del hígado inducidas por infecciones por *Eimeria papillata*. Su actividad antiinflamatoria mostrada por el aceite de ajo es principalmente a través de la inhibición de los procesos de ensamblaje y desmontaje del citoesqueleto .El efecto preventivo y la posible toxicidad del aceite de ajo y sus compuestos orgánicos de azufre en la inflamación sistémica inducida por endotoxinas y el daño intestinal. Un compuesto de plomo derivado de la alicina se muestra como un buen punto de partida para el desarrollo de medicamentos antiinflamatorios con menos efectos secundarios.²²

2.2.2.6 Composición química del *Allium sativum*

La composición química de la planta muestra que los compuestos de azufre como la alicina son componentes importantes de la planta. Aunque la alicina (dialil-ditiosulfinato) es el alcaloide más importante del que generalmente se afirma que es responsable de sus efectos beneficiosos y se han realizado numerosos estudios hasta ahora, se señala que otros compuestos de azufre, como el disulfuro de dialilo (DDS) La S-alilcisteína (SAC) y el trisulfuro de dialilo (DTS) también tienen algunos roles en los efectos de la planta. Además de *A. sativum*, alicina, y otros organosulfuros están presentes en *A. hirtifolium* y desempeñan importantes funciones farmacológicas.²²

2.2.2.7 La alicina

Es el principal constituyente de *A. sativum*, tiene una variedad de actividades antimicrobianas. Él se debe a su reacción química con grupos tiol de diversas enzimas, por ejemplo, alcohol deshidrogenasa, esto se da por la interacción de alicina siendo un ácido no proteico con la alicina evidenciando su efecto antimicrobiano. Esta susceptibilidad dependerá de las diferentes estructuras bacterianas en cuando a su desintegración de su pared celular estructural, por lo que la alicina y otros componentes pueden ser los causantes de la inhibición o resistencia entre otras bacterias tanto gram (+) y gram (-). Se demostró que la alicina tiene un amplio espectro de actividad antimicrobiana contra diversas especies: *Proteus*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Klebsiella*, *Clostridium*, *Escherichia coli* y *Mycobacterium tuberculosis* entre otras bacterias.²¹

III. Hipótesis

La concentración del extracto hidroetanólico de *Allium sativum* al 100% presenta mayor efecto antibacteriano, in vitro, que la concentración al 70%, sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

IV. Metodología

4.1 Diseño de la investigación

- El estudio fue de tipo cuantitativo: porque se utilizó la recolección de datos, con base en la medición numérica y análisis estadístico. ²⁴
- Explicativo: Porque tiene como finalidad demostrar relación entre variables dependientes e independientes. ²⁴
- Experimental: Cuando se maneja la variable independiente e dependiente para obtener un resultado. ²⁴
- Prospectivo: Son aquellos donde los datos se planifican y se va registrando en la medida que ya ocurrió el fenómeno, tiene control de sesgo de medición. ²⁴
- Analítico: Explican, la causa y el efecto de un determinado fenómeno, por lo que trata de evaluar la relación entre las variables y las compara. ²⁴
- Transversal: Se tomaran los datos en un solo tiempo. ²⁴

4.2 Población y muestra.

La población estuvo conformada por cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

El cálculo para el número de ensayos estuvo determinado por la fórmula.

Muestra Preliminar:

$$n = \frac{2 * (Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 * S^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

n Número discos por grupo

$Z_{\alpha/2}=1.96$ Valor normal al 5 % de error tipo I

$Z_{\beta}=0.842$ Valor normal al 20% de error tipo II

\bar{X}_1 Efecto antibacteriano medio de la concentración 70% de extracto hidroetanólico de *Allium sativum*.

\bar{X}_2 Efecto antibacteriano medio de la concentración 100% de extracto hidroetanólico de *Allium sativum*.

S Desviación estándar del efecto antibacteriano de las concentraciones de extracto hidroetanólico de *Allium sativum*.

Se asume: $S/(\bar{X}_1 - \bar{X}_2) = 1$. Valor asumido por no haber información previa completa de estudios similares (referencia bibliográfica)

Reemplazando de tiene:

$$n = 2 * (1.96 + 0.842)^2 * 1^2$$

$n = 16$ discos/grupo

Se emplearon 16 placas petri por grupo experimental y control. Por lo que se realizó 16 repeticiones en cada grupo experimental (70% y 100%) de extracto hidroetanólico de *Allium sativum*. Se utilizaron 16 placas petri para los grupos experimentales en donde 2 placas petri eran para los controles positivos y 1 placa petri era para el control negativo.

4.2.1 Criterios de inclusión:

- Placas petri contaminadas con cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

4.2.2 Criterios de exclusión

- Placa petri contaminada con otros microorganismos.

4.3 Definición y operacionalización de variables e indicadores

| Variable | Definición conceptual | Definiciones Operacionales | Indicadores | Valores finales | Tipos de variables | Escala de medición |
|---|--|--|---|-----------------|--------------------|--------------------|
| Variable independiente | Es una sustancia obtenido del <i>Allium sativum</i> (ajo) con ayuda del alcohol y del agua destilada, consiguiendo así la sustancia activa del vegetal. ⁴ | Es un concentrado conseguido, por medio de un periodo de maceración de la sustancia obtenida del <i>Allium sativum</i> . | Concentración del extracto hidroetanólico del <i>Allium sativum</i> | 70% 100% | Cualitativa | Ordinal |
| Extracto hidroetanólico del <i>Allium sativum</i> | | | | | | |
| Variable dependiente | Es una sustancia cuyas propiedades evitan e impide el desarrollo y crecimiento celular de algunas bacterias. ²² | Para el estudio se valoró el tamaño de formación del diámetro de halos de inhibición. | Halos de inhibición | mm | Cuantitativa | De razón |
| Efecto antibacteriano | | | | | | |

4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Preparación y desarrollo del extracto hidroetanólico de *Allium sativum* (ajo)

4.4.1 Recolección e identificación taxonómica de la muestra

Se recolectaron 5Kg de dientes de ajo (*Allium sativum*) de San Ignacio distrito de Sincicap, Provincia de Otuzco, Región de La Libertad. La recolección de la especie se realizó por el método convencional o clásico de herborización y teniendo en cuenta que sea una planta orgánica.²⁵

Una parte de la planta (hoja, tallo, raíz, flor) fue llevada al Herbarium Truxillense para su identificación taxonómica.²⁵

4.4.2 Selección de la muestra

Los dientes de ajo fueron recolectados y transportados al laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, en donde se seleccionaron aquellos dientes que estén en buen estado.²⁵

4.4.3 Obtención del extracto hidroetanólico de *Allium sativum* por maceración

La muestra del extracto fue obtenida por el procedimiento de la fase de maceración; por lo tanto se utilizó 5kg de dientes de ajo (*Allium sativum*), los cuales se pelaron y lavaron con agua destilada y gotas de hipoclorito de sodio, una vez realizado ese procedimiento se llevaron a licuar y asimismo fueron extraídos con una solución hidroetanólica (50% de agua destilada y 50% de alcohol de 96°) donde fueron oprimidos a dicho proceso, dentro de un intervalo

de 7 a 15 días, lo cual estuvieron en un envase de vidrio color ámbar, que estaba en constante agitación diaria y además, sin cámara de oxígeno.²⁵

4.4.4 Desinfección del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum*.

Pasado los 7 a 15 días de maceración se realizó la desinfección del extracto con la finalidad de expeler el sobrenadante, para lo cual se utilizó un equipo convencional de filtrado empleando papel Whatman N° 20 en el motor de precipitación al vacío, durante un periodo de tiempo de 60 minutos.²⁶

4.4.5 Establecimiento de la densidad del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum*.

Asimismo fueron, purificadas y la prueba se echó en placas petri, por lo tanto, se pusieron en la estufa a secar a nivel de temperatura de 40°C. durante el tiempo de 48 horas (hasta que esté completamente seco). Por consiguiente, se evaporó el solvente y lo restante se pesó y se calculó la cantidad porcentual del peso original al peso a término, puesto que la obtención del resultado de dicho peso es el peso de rendimiento que fue total de 130 mg. (2,6%).²⁶

4.4.6 Mantenimiento de la muestra.

Para el mantenimiento de la muestra se almacenaron en un recipiente ámbar sellado herméticamente y congelado a un nivel de temperatura 4°C. 20.²⁶

4.4.7 Disolución de la muestra en las diferentes concentraciones.

Luego fueron disueltas las muestra de la esencia hidroetanólico del *Allium Sativum* (ajo) en las diferentes concentraciones de 70% y 100%.

4.4.8 Evaluación del efecto antibacteriano, in vitro, del extracto hidroetanólico de *Allium sativum* sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

4.4. 8.1 Reactivación de la cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Para este estudio se utilizó cultivo liofilizado de la bacteria de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Donde la reactivación se realizó sembrando el cultivo liofilizado en tubo de ensayo con 5 mL de Caldo Brain Heart Infusion (BHI) o Infusión Cerebro Corazón, luego se incubo a 37°C por 24 horas en condiciones de microaerofilia.²⁶

Para evaluar pureza se sembró por estría en Agar TSYB e incubó en 37°C por 24 horas en condiciones de microaerofilia. Posteriormente se eligió una colonia compatible con *Enterococcus* para realizar coloración gram.²⁶

La cepa se mantuvo en caldo BHI y en Agar Tripticasa Soya (TSA), hasta su posterior utilización

4.4.9 Preparación de las concentraciones del extracto hidroetanólico de *Allium sativum*.

A partir del extracto hidroetanólico obtenido se procedió a preparar la concentración de 70% y 100%. Luego, se preparó las concentraciones a emplear en la investigación que fue de 70% y 100%.²⁶

4.4.1.1 Evaluación de la susceptibilidad antibacteriana mediante el método de Kirby Bauer.

Fue realizado mediante el método Kirby Bauer, de difusión en agar.

Para lo cual se procedió de la siguiente manera: Estandarización del inóculo de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Las cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, mantenidos en Caldo BHI se sembraron en Agar TSA, e incubo bajo condiciones de microanaerobiosis a 37°C durante 24 horas, con el fin de obtener colonias jóvenes.

Luego, de 24 horas cada colonia de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, se colocaron en caldo BHI y se realizaron suspensiones con una turbidez semejante al tubo número 0.5 del Nefelómetro de Mac Farland (1.5×10^8).

26

4.4.1.2 Inoculación

Después de haber pasado los 15 minutos del ajuste de la turbidez del inóculo (1.5×10^8 ufc/ml), se tomó una alícuota de 100µl y se colocaron en cada una de las placas con Agar Müeller Hinton, con un hisopo estéril sumergido en la suspensión, se distribuyó la suspensión bacteriana en tres direcciones para asegurar una proporción semejante del inóculo en la placa. Asimismo, se dejó secar la lámina a un nivel de temperatura ambiente en el intervalo de 3 a 5 minutos puesto que la abundancia de cantidad de humedad insustancial sea absorbida.²⁶

4.4.1.3 Preparación de discos con el extracto hidroetanólico de *Allium sativum*

Se colocaron en discos de papel filtro whatman número 3, donde estaban libres de cualquier forma de microorganismos, donde fueron empapados con cierta

cantidad de 30 uL de cada una de las concentraciones de 70% y 100% del extracto hidroetanólico de *Allium sativum*. Luego, con un sujetador estéril, los discos fueron puestos sobre los medios de cultivo de Müeller Hinton inoculadas con la bacteria de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. ²⁶

4.4.1.4 Incubación

Se realizó la incubación de las placas en ubicación invertida durante 15 minutos siguientes al empleo de los componentes a evaluar, a un nivel de temperatura de 37°C durante el intervalo de tiempo de 24 horas en microaerofilia se utilizó la jarra Gaspak con el procedimiento de la vela. ²⁵

4.4.1.5 Lectura de los resultados

Se midieron los diámetros (mm) de los halos para parar el crecimiento del contorno de cada disco. Para lo cual se utilizó la regla milimetrada vernier (anexo1), abarcando el diámetro del halo. ²⁶

Se realizó 16 repeticiones de cada concentración.

4.5 Plan de análisis

Los datos recolectados experimentalmente fueron incorporados en una base de datos elaborada en MINITAB 18, debido a que se mostró en cuadros con medias y desviaciones estándar del efecto antibacteriano entre concentraciones. Aspectos importantes serán mostrados en gráfico lineal. ²⁵

El efecto antibacteriano in vitro de las concentraciones de extracto hidroetanólico de *Allium sativum* sobre cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 , fueron comparado empleando la prueba de DUNCAN y ANOVA,

para la comparación de medias ambas pruebas mostraron diferencia estadística significativa ($p=0.00<0.05$), al comparar el efecto de las concentraciones y los controles.²⁶

4.6 Matriz de consistencia

| PROBLEMA | OBJETIVO | HIPÓTESIS | VARIABLES | POBLACION |
|---|--|--|---|---|
| <p>¿Cuál es la diferencia del efecto antibacteriano entre dos concentraciones del extracto hidroetanólico de <i>Allium sativum</i> sobre cepas <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212?</p> | <p>OBJETIVO GENERAL Comparar, el efecto antibacteriano entre dos concentraciones de extracto hidroetanólico de <i>Allium sativum</i> sobre cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212</p> <p>OBJETIVOS ESPECIFICOS Evaluar, in vitro el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico del <i>Allium sativum</i> al 70% sobre cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212</p> <p>Evaluar, in vitro el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico del <i>Allium sativum</i> al 100% sobre cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212</p> <p>Comparar, in vitro, el efecto antibacteriano entre la clorhexidina al 2% y las concentraciones del extracto hidroetanólico de <i>Allium sativum</i> sobre cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212</p> <p>Comparar, in vitro, el efecto antibacteriano entre el hipoclorito de sodio al 4% y las concentraciones del extracto hidroetanólico de <i>Allium sativum</i> sobre cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212</p> <p>Comparar, in vitro, el efecto antibacteriano entre el etanol a 70° y las concentraciones del extracto hidroetanólico de <i>Allium sativum</i> sobre cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212</p> | <p>La concentración del extracto hidroetanólico de <i>Allium sativum</i> al 100% presenta mayor efecto antibacteriano, in vitro, que la concentración al 70%, sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212.</p> | <p><i>Allium sativum</i> (ajo)</p> <p>Efecto antibacteriano</p> | <p>Cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212</p> |

4.7 Principios éticos y legales

4.4 Principios éticos y legales

Se respetó los principios éticos contemplados en el código de ética de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote.²⁷

Los cuales fueron aplicados en esta investigación tomando en cuenta los siguientes puntos:

Cuidado del medio ambiente y la biodiversidad: Tuvo como finalidad el cuidado tanto del medio ambiente como la biodiversidad tomándose las medidas de bioseguridad en lo que concierne los desechos de los materiales empleados en la ejecución de este proyecto como líquidos y reactivos.²⁷

Beneficencia no maleficencia: La finalidad de este proyecto estaba dentro de los parámetros generales de no causar algún tipo de daño, y evitar posibles efectos colaterales, y la vez maximizar los aportes, con los nuevos resultados obtenidos al haber realizado la ejecución del proyecto.²⁷

Integridad científica: Se llevó a cabo bajo el reglamento de las normas de deontológicas, por lo que se aclaró los conflictos de interés en relación a la integridad científica de la investigación.²⁷

Manejo de material contaminante: Las sustancias utilizadas en el estudio, como fue el microorganismo y las soluciones para su activación y enfrentamiento, fueron llevados a la autoclave para ser esterilizados, en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Biología de la Universidad Nacional de Trujillo, por el personal encargado de dicha entidad.²⁷

V. Resultados

5.1 Resultados

Tabla 1.

Evaluación del Efecto antibacteriano de las diferentes concentraciones del extracto hidroetanólico del *Allium sativum* sobre cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. ULADECH, Trujillo - 2018

| Grupos de tratamiento | n | Promedio | Desv. Estándar | P(anova) |
|------------------------------|----|----------|----------------|----------|
| Extracto hidroetanólico 70% | 16 | 9.9 | 0.34 | |
| Extracto hidroetanólico 100% | 16 | 14.6 | 0.50 | 0.000 |
| Gluconato de Clorhexidina 2% | 16 | 22.1 | 0.96 | |
| Hipoclorito de sodio 4% | 16 | 23 | 0.52 | |
| Etanol 70° | 16 | 0 | 0 | |

Fuente: Datos propios obtenidos de la medición**

*Prueba ANOVA (Nivel de significancia 0.05)

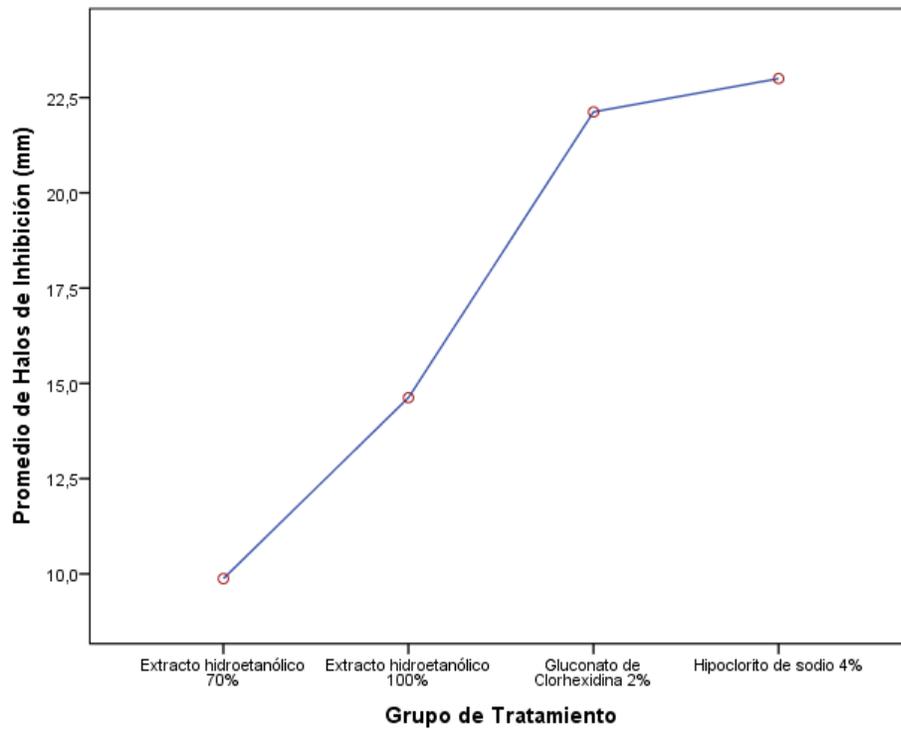
Interpretación:

En la tabla 1 se observa que el mayor efecto antibacteriano se obtiene con Gluconato de Clorhexidina al 2% con un halo promedio de 22.1 mm y desviación estándar de 0.96 mm.

El análisis de varianza muestra que existen diferencias muy altamente significativas entre los grupos de tratamiento ($p < 0.001$). (Se excluyó al control negativo etanol 70° por tener valores nulos de halos, lo cual puede reportar diferencias significativas entre los tratamientos aunque éstas no existan.)

Grafico 1

Efecto antibacteriano entre dos concentraciones del extracto hidroetanólico de *Allium sativum* al 70% y 100% sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212



Fuente: datos proporcionado por el investigador

Nótese que los efectos antibacterianos son diferentes para cada grupo de tratamiento, en el gráfico N° 1 correspondiente estas diferencias se observan con mayor detalle.

Tabla 2

Comparación del efecto antibacteriano de las concentraciones del extracto hidroetanólico de *Allium sativum* y los controles positivo y negativo sobre cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

| Grupos de Tratamiento | n | Subconjunto para $\alpha= 0.05$ | | | | |
|------------------------------|----|---------------------------------|------|------|----|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Extracto hidroetanólico 70% | 16 | 9.9 | | | | |
| Extracto hidroetanólico 100% | 16 | | 14.6 | | | |
| Gluconato de Clorhexidina 2% | 16 | | | 22.1 | | |
| Hipoclorito de sodio 4% | 16 | | | | 23 | |
| Etanol 70° | 16 | | | | | 0 |

Fuente: Datos propios obtenidos de la medición **

*Prueba de DUNCAN

Interpretación

En la tabla 2 se realizan las comparaciones de los efectos antibacterianos obtenidos con cada grupo de tratamiento, así vemos que el menor efecto se da en el extracto hidroetanólico de *Allium sativum* al 70%. A su vez el máximo efecto antibacteriano se da con el Hipoclorito de sodio 4%.

5.2. Análisis de los Resultados

En este estudio se ha comparado la eficacia del efecto antibacteriano entre dos concentraciones de extracto hidroetanólico de *Allium sativum* sobre cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y donde se demostró que conforme iban aumentando las concentraciones del extracto hidroetanólico, mayor fue el efecto antibacteriano frente a dicho microorganismo. Demuestran que al 70% y 100% del extracto se llegó a evidenciar el efecto antibacteriano sobre el *Enterococcus faecalis*, observándose la formación del tamaño del halo de inhibición, alrededor de discos por acción de los extractos hidroetanólicos de *Allium sativum*.

Los resultados del estudio coinciden con los de Sealih J, et al.⁸ quien muestra en su estudio que la concentración a partir del 100%, del extracto de *Allium sativum* presentó efecto inhibidor sobre *E.feacalis* mostrando la formación de un halo entre 33 mm de diámetro, siendo más efectiva su actividad antibiótica frente a éste, por lo que en éste estudio el extracto hidroetanólico de *Allium sativum* presentó mejor efecto antibacteriano al 100% mostrando una formación de halo de inhibición de 14.6 mm sobre dicha bacteria.

Panchi M, et al.⁹ En su estudio se comprobó la acción antimicrobiana del extracto hidroalcohólicos tanto del tomillo (hojas) y ajo (pepas) , la obtención de los extractos hidroalcohólicos mostrando la formación de halos de inhibición a partir del 75% con una formación de halo de 6.5 mm y 100% de 9.38 contra el *Enterococcus faecalis* , estando de acuerdo con este estudios que al 70% del extracto en este caso hidroetanólico de *Allium sativum* se evidencio que hubo efecto antibacteriano frente esta bacteria patógena mostrando una formación de

halo de inhibición diferente al estudio anterior con un promedio de 9.9 y 14.6 mm entre el 70% y 100% , al igual que Birring OJ, et al.¹⁰, quien encontró efectividad antimicrobiana frente al *Enterococcus faecalis* con su extracto al 70% .Estando de acuerdo en mi investigación que al 70% se puede ir ya evidenciando su efecto antimicrobiano contra dicha bacteria. Asimismo ninguno de las dos concentraciones usados en el estudio superaron el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio, sin embargo en los hallazgos de Kandaswam, et al.¹², nos refiere que posiblemente el extracto ajo supera en efecto antibacteriano en comparación al Ca (OH) 2 al enfrentarlo al *Enterococcus faecalis*.

Mientras que por otra parte Karkare SR, et al.¹¹ En su estudio está de acuerdo con la investigación de Birring OJ,⁹ en donde menciona que tanto los extractos hidroetanólicos como hidroalcohólicos tiene efecto antibacteriano contra esta bacteria pero el hipoclorito de sodio se considera como Golden estándar frente al *Enterococcus faecalis*.

Esta se confirma por Hugar S, et al.⁶, quien refuerza la investigación de los autores mencionados ,ya que no solo los extractos etanólicos , hidroalcohólicos y acuosos tiene efecto frente a este bacteria, sino también aceite de ajo, que mostraron una eficacia considerable contra *E. faecalis*, siendo el aceite de ajo, un desinfectante eficaz y pueden utilizarse como una alternativa al autoclave contra el microorganismo de prueba , estando de acuerdo en el estudio, que el extracto hidroetanólico de *Allium sativum* mostro al 70 % y 100% mostro mejor efecto antibacteriano contra *E. faecalis* teniendo una formación de halo mayor a los demás estudios .

Por otra parte Pravovic DR, et al.⁷ En su estudio refiere que no solamente los extractos de ajo poseen propiedades antibacterianas sino también cierto potencial antioxidante contra cepas contra las cepas enteropatógenas probadas (*Salmonella enteritidis* fue la más sensible, seguida de *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* y *Enterococcus faecalis*).

Al igual que Percca H, et al.¹³ En su estudio se evidencia la gran capacidad antibacteriana del extracto de *Allium sativum* y del gluconato de clorhexidina frente a *Enterococcus faecalis*, mostrando 2 343.75, 4 687.5 y 9375 μ g/ml de efecto inhibitorio frente al *E. faecalis*, en comparación con este estudio en el cual el extracto hidroetanólico de *Allium sativum* al 70 y 100% y la clorhexidina al 2% mostro gran efecto antibacteriano mediante la formación de halos de inhibición entre 14.6mm y 22.1mm a diferencia del anterior que son en otras unidades , estando de acuerdo que los extracto de *Allium sativun* (ajo) y el gluconato de clorhexidina poseen gran capacidad antibacteriana frente a esta bacteria.

Esta diferencia se podría deber a la metodología empleada por los diferentes autores en su investigación y a la utilización de algunas santanicas que ayuden a beneficiar más el efecto de sus extractos y a la obtención de estos como sus extractos hidroalcohólicos de *Allium sativum* de Hugar S, et al.⁶, y el extracto a base de aceite ajo por Karkare SR, et al.¹¹, el cual enfrentaron al *Enterococcus faecalis* y tuvieron grandes resultados en su efectividad antibacteriana. Es por ello que nuestra investigación difiere de algunos estudios, por lo que para nuestro enfrentamiento contra el *Enterococcus faecalis* se utilizó dos extractos

hidroetanólico de *Allium sativum* al 70% y 100% que estuvo elaborada a base de agua destilada como solvente y etanol al 96 ° el cual también es un agente antimicrobiano antibacteriano, demostrando que mayormente los extractos muestran efectos significativos frente a dicho microorganismo.

Esta actividad antibacteriana del *Allium sativum* “ajo” se debería a su principio activo que es la alicina uno de los compuestos más activos biológicamente, ya que ésta activa la enzima alinasa, que metaboliza la alilina en alicina la cual se metaboliza aún más a las vinilditinas. Esta descomposición ocurre en cuestión de horas a temperatura ambiente y en minutos durante la cocción y es por ello que alicina ejerce actividad antibacteriana contra bacterias gramnegativas y grampositivas, siendo principalmente la razón de la eficacia antibacteriana del extracto de ajo. Feldberg RS, et al.²³, nos dice que la alicina ejerce actividad antibacteriana contra el *E.facalis*, principalmente al interferir con la síntesis de ARN. Esta podría ser la razón posible de la eficacia antibacteriana del extracto de ajo. Dicho autor en su estudio demostró que no sólo el ajo tiene efecto contra dicha bacteria sino también que el extracto hidroetanólico de *Allium sativum* tuvo efecto antibacteriano contra *Enterococcus faecalis*, evidenciando así que este tiene efecto contra otras bacterias como la *Salmonella typhimurium*.²¹

Cabe mencionar en nuestro estudio piloto se realizó la elaboración del extracto hidroetanólico de *Allium sativum* al 40% en donde no se evidenció efecto alguno contra *E. faecalis*. Por lo que se confirma la hipótesis de investigación planteada en cuanto al *Allium sativum* presenta efectividad antibacteriana frente a *Enterococcus faecalis*, demostrando que a mayor concentración mayor efecto.

VI. Conclusión

- El extracto hidroetanólico de *Allium sativum* al 100% tiene mayor efecto antibacteriano frente a *Enterococcus faecalis* que al 70%.
- El extracto hidroetanólico de *Allium sativum* al 70% tiene efecto antibacteriano frente a *Enterococcus faecalis*.
- El extracto hidroetanólico de *Allium sativum* al 100% tiene efecto antibacteriano frente a *Enterococcus faecalis*.
- El gluconato de clorhexidina al 2% tiene mayor efecto antibacteriano frente a *Enterococcus faecalis* que los extractos hidroetanólicos de *Allium sativum* al 70% y 100%.
- El hipoclorito de sodio al 4% tiene mayor efecto antibacteriano frente a *Enterococcus faecalis* que los extractos hidroetanólicos de *Allium sativum* al 70% y 100%.
- El etanol al 70% no tiene efecto antibacteriano frente a *Enterococcus faecalis* mientras que los extractos hidroetanólicos de *Allium sativum* al 70% y 100% si presentan efecto antibacteriano.

Aspectos Complementarios

Recomendaciones

- Se recomienda realizar más estudios in vitro sobre el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Allium sativum* frente a otras bacterias patógenos orales.
- Se recomienda determinar la concentración inhibitoria y mínima bactericida del extracto hidroetanólico de *Allium sativum* frente a *Enterococcus faecalis*.
- Se recomienda realizar estudios de la influencia de la temperatura en el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de de *Allium sativum* sobre *Enterococcus faecalis*.

Referencias bibliográficas

1. Grossman, L. Terapéutica de los conductos radiculares. 4ta. edición. Buenos Aires; 1959.
2. Pérez R, Díaz Flor V, Algar J, Valencia O, Estévez R, Cisneros R. Actualización en microbiología endodóntica. *Cient. Dent*; 2013; (1):10- 27-39. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4242586>
3. Montealegre P, Jose M, Zeledón M, Rodolfo, Benavides G, Marianella; Gallardo B, Carolina. Propiedades fisicoquímicas y disolución de tejido pulpar del hipoclorito de sodio utilizado como irrigante endodóntico en tres centros de atención odontológica de la caja costarricense del seguro social. *Revista Científica Odontológica (internet)*. 2014 (consultado el 15 de marzo del 2018): 10 (1); 43-51. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/3242/324233026006.pdf>
4. Corrales-Reyes I. Actividad antimicrobiana y antifúngica de *Allium Sativum* en estomatología. *Revista Científica Odontológica (internet)*. 2014 (consultado el 25 de mayo del 2019): 53-254.
5. Budiardjo S, Indarti I, Fauziah E, Suharsini M, Sutadi H, Fahlevi M. Garlic Extrac Efficacy Against Viability of *Enterococcus faecalis* (in vitro). *International Journal of Applied Pharmaceutics (internet)*. 2019 (consultado el 25 de agosto del 2020); 11 (1). Disponible en: <https://innovareacademics.in/journals/index.php/ijap/article/view/33431>
6. Hugar S, M Patel P, Nagmoti J, Uppin C, Mistry L, Dhariwal N. An in vitro Comparative Evaluation of Efficacy of Disinfecting Ability of Garlic Oil, Neem Oil, Clove Oil, and Tulsi Oil with autoclaving on Endodontic K Files tested

- against *Enterococcus faecalis*. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2017; 10(3):283–288. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29104390>
7. Pavlović D, Veljković M, Stojanović NM, Gočmanac I M, Mihailov K, Branković S, Sokolović D, Marčetić M, Radulović N, Radenković M. Influence of different wild-garlic (*Allium ursinum*) extracts on the gastrointestinal system: spasmolytic, antimicrobial and antioxidant properties. 2017. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28543032>
 8. Sealih, J, Monawer, A, Unbdullacahar, L. Antibacterial Activity of Garlic against Multi-Drug Resistant *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis* in Duhok city. *Journal of University of Duhok* (internet). 2016 (consultado el 31 de Agosto del 2020); 19 (1); 114-122. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/316597271_Antibacterial_Activity_of_Garlic_against_MultiDrug_Resistant_Staphylococcus_aureus_and_Enterococcus_faecalis_in_Duhok_city
 9. Panchi M. Efecto antimicrobiano de los extractos de las hojas de tomillo (*thymus vulgaris*) y de las pepas de ajo (*allium sativum*) sobre las cepas de *enterococcus faecalis*. Estudio in vitro. [Tesis para obtener el Título de Cirujano Dentista]. Quito: Universidad Central de Ecuador. 2016. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/5682>
 10. Birring O, Vloria I, Nunez P. Eficacia antimicrobiana del extracto de *Allium sativum* contra el biofilm de *Enterococcus faecalis* y su penetración en la dentina de la raíz: un estudio in vitro. *Indian J Dent Res*. 2015; 26: 477.82. Disponible en

<http://www.ijdr.in/article.asp?issn=09709290;year=2015;volume=26;issue=5;spage=477;epage=482;aulast=Birring>

11. Karkare S, Ahire N, Khedkar S. Comparative evaluation of antimicrobial activity of hydroalcoholic extract of Aloe vera, garlic, and 5% sodium hypochlorite as root canal irrigants against *Enterococcus faecalis*: An in vitro study. J Indian Soc Pedod Prev Dent. 2015; 33:274. Disponible en : <http://www.jisppd.com/article.asp?issn=09704388;year=2015;volume=33;issue=4;spage=274;epage=278;aulast=Karkare>
12. Kandaswam, Eswar . Desinfección de túbulos dentinales con clorhexidina al 2%, extracto de ajo e hidróxido de calcio contra *Enterococcus faecalis* mediante el uso de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real: estudio in vitro. 2013; 16 (3): 194–198. Disponible en: <http://www.jcd.org.in/article.asp?issn=0972-0707;year=2013;volume=16;issue=3;spage=194;epage=198;aulast=Eswar>
13. Percca H, Palomino M, Champi Roky. Actividad antimicrobiana del extracto de *Allium sativum* y del digluconato de clorhexidina en aislamientos clínicos de *Enterococcus faecalis*. Revista de la Sociedad de Endodoncia de Chile (internet). 2014 (consultado el 31 de agosto del 2020); (30). Disponible en <http://www.hnhu.gob.pe/cuerpo/apoyo%20a%20la%20docencia%20e%20investig/2014/articulos%20cient%20c3%8dficos/canal%20abierto%20-%20revista%20de%20la%20sociedad%20de%20endodoncia%20de%20chile.pdf>
14. Canalda C, Brau E. Técnica clínicas y fundamentos científicos .Endodoncia. 2^{da} Ed. Barcelona: Editorial Masson S.A; 2016. Disponible en;

https://www.academia.edu/36232234/Canalda_Endodoncia_Tecnicas_Clinicas_Bases_Cientificas_pdf

15. Casal M., Rodriguez F. Investigación de las resistencias a antimicrobianos en *Enterococcus faecalis*. Servicio de Microbiología Hospital. Universitario Reina Sofía Córdoba en España. Rev Esp Quimioter. 2012; 22:117.119. Disponible en; <https://seq.es/seq/0214-3429/25/3/casal.pdf>
16. Germán P, Carolina G, Elba C, Elsi Natalí Briceño. Detección de *Enterococcus faecalis* en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico. Revista Facultad de Odontología Universidad Cesar Vallejo. 2009. Disponible en; <https://www.actaodontologica.com/ediciones/2009/1/art-12/>
17. Carrero C, González MC, Martínez MA, Serna F, Díez H, Rodríguez A. Baja frecuencia de *Enterococcus faecalis* en mucosa oral de sujetos que acuden a consulta odontológica. Rev Fac Odontol Univ Antioq. 2014; 26(2): 261-270. Disponible en; <http://www.scielo.org.co/pdf/rfoua/v26n2/v26n2a03.pdf>
18. Kayaoglu G, Orstavik D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: Relationship to endodontic disease. Crit Rev Oral Biol Med. 2004; 15: 308.320. Disponible en; <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/154411130401500506>
19. Liñan M, González G. Estudio in vitro del grado de erosión que provoca el EDTA sobre la dentina del conducto radicular .2012; 8-13. Disponible en; <https://www.medigraphic.com/pdfs/odon/uo-2012/uo121b.pdf>
20. Maya J, Ruiz S. Role of chlorhexidine in the prevention of health care related infections. 2011; 15 (2): 98. Disponible en; http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922011000200004

21. Luis V, Juan M , Elmer V, Magaly S , Betzabe R. Función Antimicrobiana de la Alicina de Ajo en cultivos de Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa y Escherichia coli. Rev Cient Cienc Med. 2014; 17: 26-28. Disponible en; http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1817-74332014000100008
22. Ibraín CR, Juan RP. Actividad antimicrobiana y antifúngica de Allium sativum en estomatología. Revista. 2014; 254:59-68. Disponible en; http://www.rev16deabril.sld.cu/index.php/16_04/article/view/22
23. Feldberg R, Kotik A, Nadler M, Neuwirth Z, Sundstrom D. Mecanismo in vitro de inhibición del crecimiento de células bacterianas por alicina. Agentes antimicrobianos quimioterapia. 1988; 32: 1763-8. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC176014/>
24. Hernández R, Fernández C, Baptista Metodología de la investigación de la investigación 6ta ed, México Interamericana. 2014. Disponible en; <http://observatorio.epacartagena.gov.co/wp-content/uploads/2017/08/metodologia-de-la-investigacion-sexta-edicion.compressed.pdf>
25. Miranda, M. Métodos de Análisis de Drogas y Extractos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad Habana de Cuba. 2002. Disponible en; http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/10/915992/caracteristicas-farmacognosticas-de-las-hojas-de-alternanthera-_RyDXzZl.pdf
26. Clinical Laboratory Standard Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty third Information Supplement. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). 2013; (33)

27. Comité Institucional de Ética en Investigación. Código de ética para la investigación. 1^a ed. Chimbote: ULADECH Católica. 2019. pp. Disponible en:<https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2019/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v002.pdf>

Anexos

Anexos 1

Ficha de recolección de datos para la tesis. Comparar, el efecto antibacteriano entre dos concentraciones de extracto hidroetánolico de *Allium sativum* sobre cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

| Repeticiones | Diámetro del halo de inhibición del crecimiento (mm) | | | | |
|--------------|---|------|---------------------------------|-------------------------|------------|
| | Concentración del hidroetánolico de <i>Allium sativum</i> | | Controles | | |
| | 70% | 100% | Gluconato de clorhexidina al 2% | Hipoclorito De sodio 4% | Etanol 70% |
| 1. | | | | | |
| 2. | | | | | |
| 3. | | | | | |
| 4. | | | | | |
| 5. | | | | | |
| 6. | | | | | |
| 7. | | | | | |
| 8. | | | | | |
| 9. | | | | | |
| 10. | | | | | |
| 11. | | | | | |
| 12. | | | | | |
| 13. | | | | | |
| 14. | | | | | |
| 15. | | | | | |
| 16. | | | | | |

Anexo 2

Ficha de recolección de datos, con los valores registrados para la tesis. . Comparar, el efecto antibacteriano entre dos concentraciones de extracto hidroetánico de *Allium sativum* sobre cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

| Repeticiones | Diámetro del halo de inhibición del crecimiento (mm) | | | | |
|-----------------|--|-------------|----------------------------------|-------------------------|------------|
| | Concentración del extracto hidroetánico de <i>Allium sativum</i> | | Controles | | |
| | 70% | 100% | Gluconato de clorhexidina al 2 % | Hipoclorito De sodio 4% | Etanol 70% |
| 1. | 10 | 15 | 23 | 23 | 0 |
| 2. | 10 | 14 | 22 | 23 | 0 |
| 3. | 10 | 14 | 23 | 22 | 0 |
| 4. | 9 | 14 | 22 | 23 | 0 |
| 5. | 10 | 15 | 22 | 24 | 0 |
| 6. | 10 | 15 | 22 | 23 | 0 |
| 7. | 10 | 15 | 23 | 23 | 0 |
| 8. | 9 | 15 | 23 | 23 | 0 |
| 9. | 10 | 15 | 23 | 24 | 0 |
| 10. | 10 | 15 | 22 | 23 | 0 |
| 11. | 10 | 14 | 22 | 23 | 0 |
| 12. | 10 | 14 | 22 | 23 | 0 |
| 13. | 10 | 14 | 20 | 23 | 0 |
| 14. | 10 | 15 | 22 | 23 | 0 |
| 15. | 10 | 15 | 23 | 23 | 0 |
| 16. | 10 | 15 | 23 | 23 | |
| PROMEDIO | 9.9 | 14.6 | 22.1 | 23 | 0 |

Anexos 2

TAXONOMÍA DE LA PLANTA

 **Herbarium Truxillense (HUT)**
Universidad Nacional de Trujillo
Facultad de Ciencias Biológicas
Ir. San Martín 392, Trujillo - Perú

Constancia N° 123 – 2018- HUT

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) especimen vegetal:

- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae
- Superorden: Liliales
- Orden: Asparagales
- Familia: Amaryllidaceae
- Género: *Allium*
- Especie: *A. sativum* L.

Muestra alcanzada a este despacho por PONCIANO VALDEZ LUIS ALEXANDER, identificado con DNI N° 48308834, con domicilio legal Calle B de Octubre N° 517 – Florencia de Mora; estudiante de la Escuela de Odontología, Facultad de Ciencia de la Salud, de La Universidad Católica Los Angeles de Chimbote; cuya determinación taxonómica servirá para el proyecto tesis titulado "COMPARACIÓN *in vitro* DEL EFECTO ANTIBACTERIANO ENTRE CONCENTRACIONES DE EXTRACTO HIDROETANOLICO DE *Allium sativum* SOBRE CEPAS DE *Enterococcus faecalis* atcc 29212"

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 16 de enero del 2018


JOSE MOSTACERO LEON
Director del Herbario HUT



cc: Herbario HUT

E-mail: herbariumtruxillensehut@yahoo.com

Anexo 3:

VERNIER DIGITAL marca MITUTOYO, Modelo 500-196-20 ABSOLUTE Digimatic

Caliper 0-150mm / 0-6", por estar calibrado y validado con ISO de calidad 17025



Anexo 3

CONSTANCIA

Yo: **MARILU ROXANA SOTO VASQUEZ** docente de la Cátedra de Farmacognosia del Departamento Académico de Farmacotecnia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, con código UNT 5727 y acreditada como Docente Investigadora por CONCYTEC.

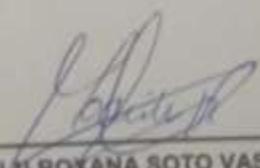
Dejo constancia de haber colaborado en la preparación de tres extractos hidroetanólico a base de *Allium sativum* (AJO) en la investigación del al alumno **PONCIANO VALDEZ LUIS ALEXANDER**, identificado con DNI N° 48308834, con domicilio legal en Calle 8 de OCTUBRE N° 517 – FLORENCIA DE MORA – TRUJILLO, estudiante de la Facultad de Odontología de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote; en la ejecución de la tesis titulada "COMPARACIÓN, IN VITRO, DEL EFECTO ANTIBACTERIANO ENTRE CONCENTRACIONES DE EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE ALLIUM SATIVUM SOBRE CEPAS DE ENTEROCOCCUS FAECALIS ATCC 29212"

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que estime conveniente.

Trujillo, 03 de Febrero del 2018

Atentamente,




Dra. **MARILU ROXANA SOTO VASQUEZ**
Docente Investigadora de la Facultad de Farmacia y Bioquímica
Laboratorio de Farmacognosia
Universidad Nacional de Trujillo

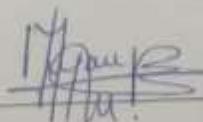
CONSTANCIA

Yo, Manuela Lujan Velásquez, biólogo- Microbiólogo docente de la Escuela de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo, con registro del CBP N°2132.

Mediante la presente dejo constancia de estar colaborando con el alumno **PONCIANO VALDEZ LUIS ALEXANDER**, en el enfrentamiento microbiológico planteado en el proyecto de investigación titulado "**COMPARACION, IN VITRO, DEL EFECTO ANTIBACTERIANO ENTRE CONCENTRACIONES DE EXTRACTO HIDROETANOLICO DE ALLIUM SATIVUM SOBRE CEPAS DE ENTEROCOCCUS FAECALIS ATCC 29212**"

Trujillo, 26 de febrero del 2018

Atentamente,

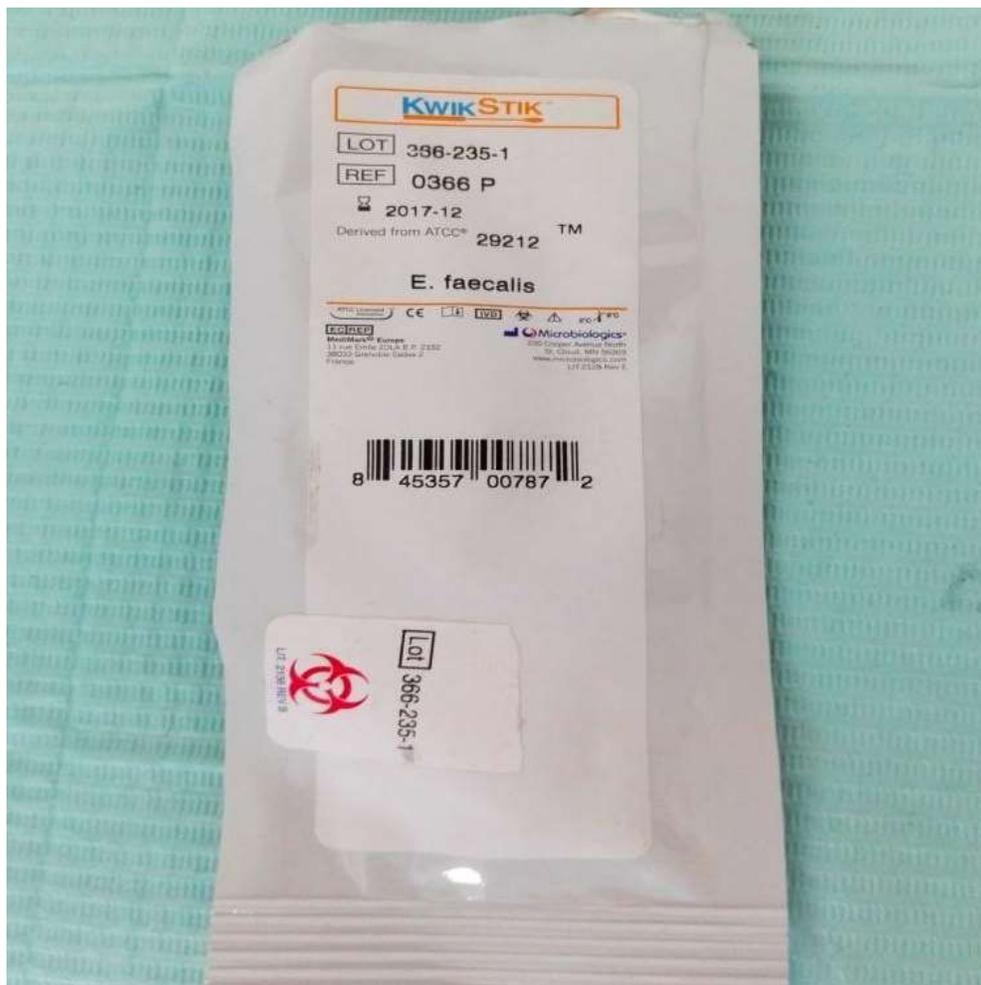


Dra. MANUELA LUJAN VELASQUEZ

Docente de la Escuela de Microbiología y Parasitología
de la Facultad de Ciencias Biológicas de la
Universidad Nacional de Trujillo

Anexo 4

Cepa de Enterococcus Faecalis ATCC 29212



Anexo 5

PRUEBA DE NORMALIDAD DE SHAPIRO WILK

Tabla 1. Efecto antibacteriano del extracto hidroetánolico de *Allium sativum* sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, determinado mediante el diámetro (mm) de los halos de inhibición del crecimiento, método Kirby Bauer

| Diámetro de halo de inhibición del crecimiento en (mm) | | | | | |
|--|--|--------|---------------------------------|----------------------------|---------------|
| Ensayos | extracto hidroetanolico de <i>Allium sativum</i> | | Controles | | |
| | 70 % | 100% | Glucanato de clorhexidina al 2% | Hipoclorito de sodio al 4% | Etanol de 70° |
| 1 | 10 | 15 | 23 | 23 | 0 |
| 2 | 10 | 14 | 22 | 23 | 0 |
| 3 | 10 | 14 | 23 | 22 | 0 |
| 4 | 9 | 14 | 22 | 23 | 0 |
| 5 | 10 | 15 | 22 | 24 | 0 |
| 6 | 10 | 15 | 22 | 23 | 0 |
| 7 | 10 | 15 | 23 | 23 | 0 |
| 8 | 9 | 15 | 23 | 23 | 0 |
| 9 | 10 | 15 | 23 | 24 | 0 |
| 10 | 10 | 15 | 22 | 23 | 0 |
| 11 | 10 | 14 | 22 | 23 | 0 |
| 12 | 10 | 14 | 22 | 23 | 0 |
| 13 | 10 | 14 | 20 | 23 | 0 |
| 14 | 10 | 15 | 22 | 23 | 0 |
| 15 | 10 | 15 | 23 | 23 | 0 |
| 16 | 10 | 15 | 23 | 23 | 0 |
| Promedio | 9.9 | 14.6 | 22.1 | 23 | 0 |
| P | 0.0583 | 0.4877 | 0.1005 | 0.5123 | 0 |
| Prueba de normalidad Shapiro-Wilk | Normal | Normal | Normal | Normal | ----- |

Fuente: Datos proporcionados por el investigador

Interpretación:

En la tabla 1 se observa una distribución normal de los datos arrojados por el investigador el cual nos dice que la prueba de normalidad se encuentra dentro de los parámetros establecidos

Anexos 6

PREPARACIÓN DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE *ALLIUM SATIVUM*

(AJO)

Fotos y evidencias del proyecto de investigación

Recolección y selección del ajo



Figura 1. Como se observa en la imagen, se está obteniendo el ajo

Se prosiguió a la seleccionado los diente de ajo a trabajar en este caso fueron 5 kg

Lavado y pelado el ajo a trabajar



Figura 2. Lavado y pelado de los dientes de ajo



Figura 3. Desinfección de los dientes de ajo sumergidos en agua



Desinfección a los dientes de ajo con 5 gotitas de hipoclorito de sodio

Licuada de los dientes de ajo



Figura 4. Colocación de los dientes de ajo en la licuadora



Figura 5. Agregación de 500 ml de alcohol al 96 % y 125 de agua destilada





Figura 6. Almacenamiento del ajo para su maceración

Como se observa en la imagen se está agregando el ajo licuado en un frasco color ámbar para posteriormente dejarlo macerando en un periodo de 7 días.

Obtención del extracto hidroetanólico del ajo



Figura 7. Macerado de ajo pasado los 7 días



Figura 8. Colocación de del macerado de ajo en el motor de precipitación al vacío



Figura 9. Obtención del extracto hidroetanólico del ajo

Establecimiento de la densidad del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum*.



Figura 10. Secado del ajo en la estufa con circulación de aire forzado a 40°C.



Figura 11. Eliminando el solvente del extracto hidroetanólico de ajo en el equipo de rotavapor.

Entrega de los extractos hidroetanólicos de ajo a las contracciones propuestas en el proyecto



Figura 12. Obtención de los extractos hidroetanólicos de ajo en diferentes concentraciones y estos fueron al 70 y al 100 %

Reactivación de la cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

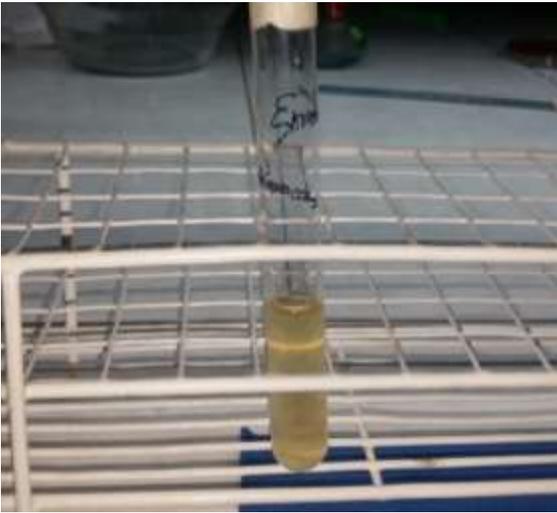


Figura 13. Sembrando el cultivo liofilizado en tubo con 5 mL de Caldo Brain Heart Infusion (BHI)

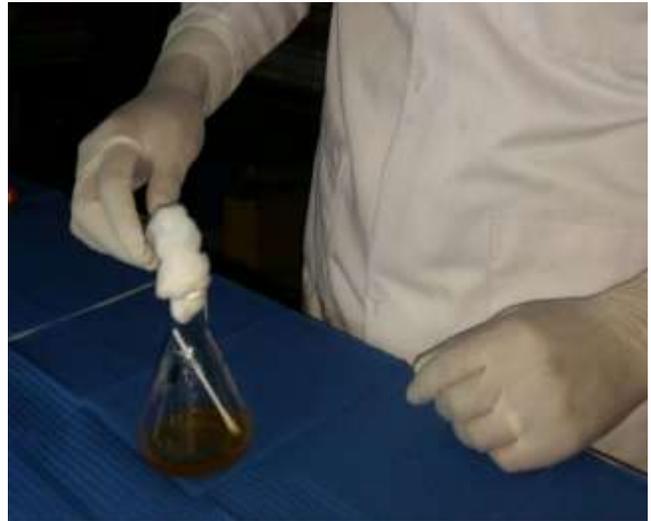


Figura 14. Activación de la bacteria de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Esterilización de materiales para el enfrentamiento



Figura 15. Esterilización de las cajas Petri donde se realizara el enfrentamiento

Inoculación de la bacteria en las cajas Petri



Figura 16. Se tomó alícuota de 100 μ l con un hisopo estéril sumergido en la suspensión



Figura17. Se colocó en cada una de las placas con Agar Müeller Hinton, y se distribuyó la suspensión bacteriana en tres direcciones para asegurar una proporción semejante del inóculo en la placa, se dejó secar en un intervalo de 3 a 5

Preparación de discos con el extracto hidroetanólico de *Allium sativum*



Figura 18. Preparación de discos de papel filtro whatman número 3.



Figura 19. .Agregando en los papeles filtros las concentraciones de extracto hidroetanólicos al 40, 70 y 100 %

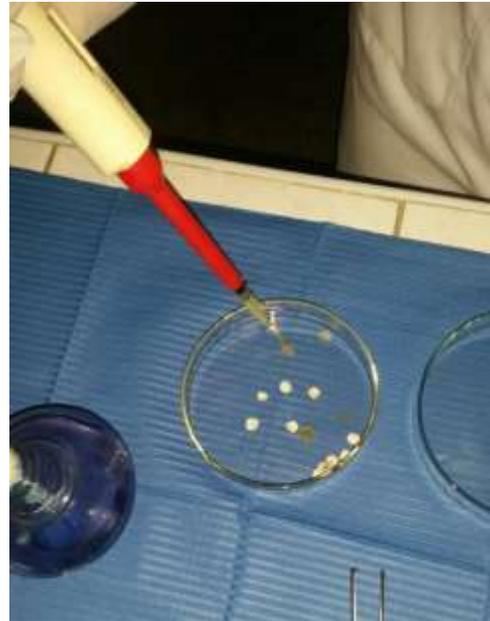


Figura 20. Empapando los papeles filtros con 30 uL con cada una de las concentraciones

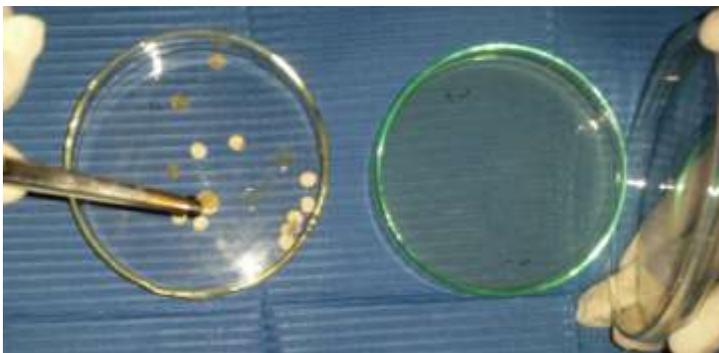


Figura 21. Con un sujetador estéril los discos serán llevados sobre el medio de cultivo

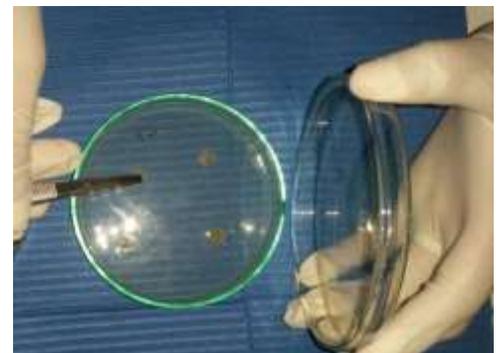


Figura 22. Colocación de los disco en los medios de cultivo de Müller Hinton inoculadas con la bacteria de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

Incubación



Figura 23. Se realizó la incubación de las placas en ubicación invertida durante 15 minutos siguientes al empleo de los componentes a evaluar, a un nivel de temperatura de 37°C durante el intervalo de tiempo de 24 y 48 horas en microaerofilia se utilizaran jarra Gaspak con el procedimiento de la vela.

Lectura de los resultados

Se utilizó VERNIER DIGITAL marca MITUTOYO, Modelo 500-196-20 ABSOLUTE Digimatic Caliper 0-150mm / 0-6", por estar calibrado y validado con ISO de calidad 17025, abarcando el diámetro del halo, evaluando el crecimiento del contorno de cada disco.

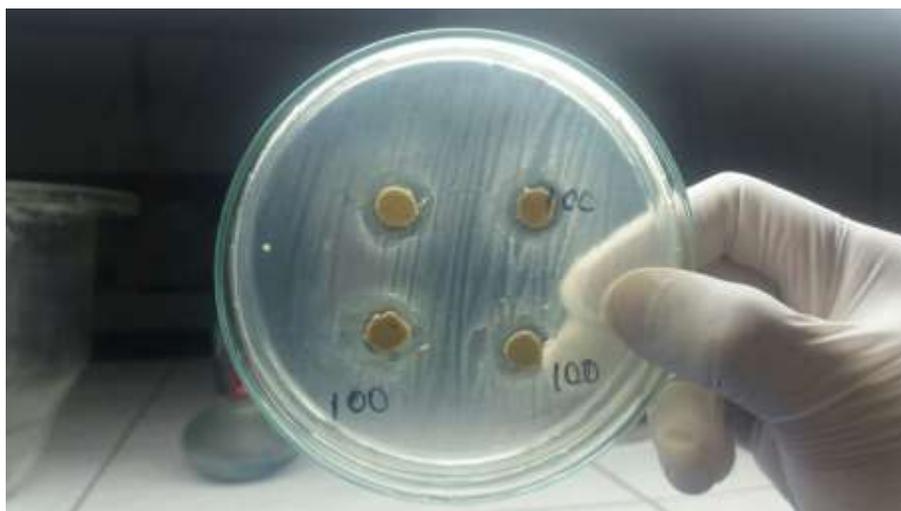
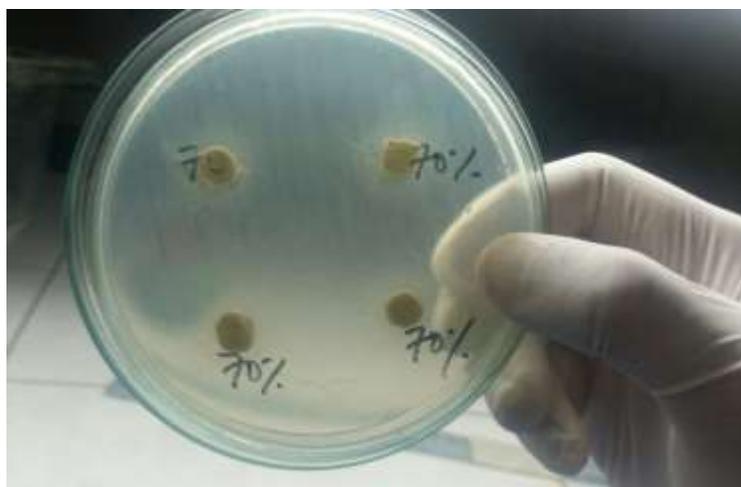
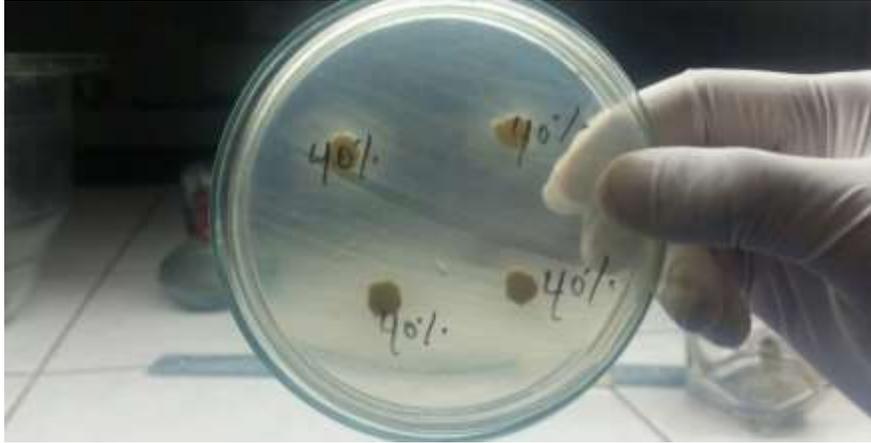


Figura 24. Examinación de las placas luego de haber pasado un intervalo de tiempo de 24 a 48 hr.



Examinación de las placas luego de haber pasado un intervalo de tiempo de 24 a 48 hr.



Grupo experimentales controles

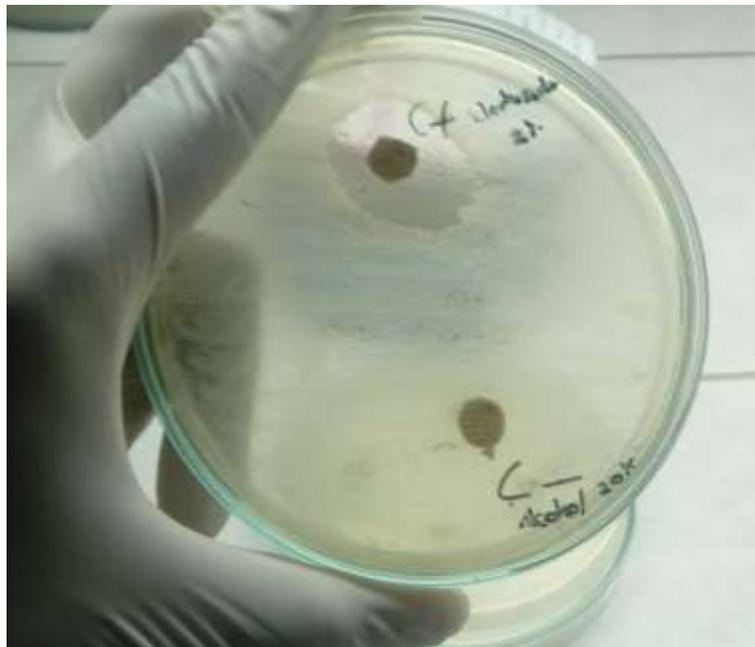


Figura 25. Se empleó como control positivo la clorhexidina 2%



Figura 26. Se empleó como control positivo el hipoclorito al 4 % y control negativo de alcohol al 70% de caldo BHI.

Anexo 7

HOJA DE DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERES

DECLARACIÓN DE CONFLICTOS DE INTERES

Título

COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO ENTRE DOS
CONCENTRACIONES DE EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE *ALLIUM SATIVUM*
SOBRE CEPAS DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS* ATCC 29212.
TRUJILLO - 2018.

El investigador declara que no existen potenciales de conflicto de interés para la realización de esta investigación.



Autor: Ponciano Valdez Luis Alexander

