



**UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES DE
CHIMBOTE**

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

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO
HIDROETANÓLICO DE LA SEMILLA DE *Theobroma cacao* Y
LA HOJA DE *Moringa oleifera* SOBRE *Enterococcus faecalis*
ATCC 29212, TRUJILLO-2019**

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

AUTOR

**HERNANDEZ ROSALES, STEPHANY CAROLYNE
ORCID: 0000-0002-9634-5825**

ASESOR

**SUAREZ NATIVIDAD, DANIEL ALAIN
ORCID: 0000-0001-8047-0990**

TRUJILLO - PERÚ

2023



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

ACTA N° 0031-113-2024 DE SUSTENTACIÓN DEL INFORME DE TESIS

En la Ciudad de **Chimbote** Siendo las **21:00** horas del día **26** de **Enero** del **2024** y estando lo dispuesto en el Reglamento de Investigación (Versión Vigente) ULADECH-CATÓLICA en su Artículo 34º, los miembros del Jurado de Investigación de tesis de la Escuela Profesional de **ODONTOLOGÍA**, conformado por:

REYES VARGAS AUGUSTO ENRIQUE Presidente
ROJAS BARRIOS JOSE LUIS Miembro
TRAVEZAN MOREYRA MIGUEL ANGEL Miembro
Mgtr. SUAREZ NATIVIDAD DANIEL ALAIN Asesor

Se reunieron para evaluar la sustentación del informe de tesis: **EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE LA SEMILLA DE Theobroma cacao Y LA HOJA DE Moringa oleífera SOBRE Enterococcus faecalis ATCC 29212, TRUJILLO-2019**

Presentada Por :
(1610151002) **HERNANDEZ ROSALES STEPHANY CAROLYNE**

Luego de la presentación del autor(a) y las deliberaciones, el Jurado de Investigación acordó: **APROBAR** por **UNANIMIDAD**, la tesis, con el calificativo de **13**, quedando expedito/a el/la Bachiller para optar el TITULO PROFESIONAL de **Cirujano Dentista**.

Los miembros del Jurado de Investigación firman a continuación dando fe de las conclusiones del acta:

REYES VARGAS AUGUSTO ENRIQUE
Presidente

ROJAS BARRIOS JOSE LUIS
Miembro

TRAVEZAN MOREYRA MIGUEL ANGEL
Miembro

Mgtr. SUAREZ NATIVIDAD DANIEL ALAIN
Asesor



CONSTANCIA DE EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD

La responsable de la Unidad de Integridad Científica, ha monitorizado la evaluación de la originalidad de la tesis titulada: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE LA SEMILLA DE Theobroma cacao Y LA HOJA DE Moringa oleifera SOBRE Enterococcus faecalis ATCC 29212, TRUJILLO-2019 Del (de la) estudiante HERNANDEZ ROSALES STEPHANY CAROLYNE, asesorado por SUAREZ NATIVIDAD DANIEL ALAIN se ha revisado y constató que la investigación tiene un índice de similitud de 14% según el reporte de originalidad del programa Turnitin.

Por lo tanto, dichas coincidencias detectadas no constituyen plagio y la tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote.

Cabe resaltar que el turnitin brinda información referencial sobre el porcentaje de similitud, más no es objeto oficial para determinar copia o plagio, si sucediera toda la responsabilidad recaerá en el estudiante.

Chimbote, 02 de Marzo del 2024



Mgtr. Roxana Torres Guzman
RESPONSABLE DE UNIDAD DE INTEGRIDAD CIENTÍFICA

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por darme la luz para continuar, por fortalecerme en momentos de debilidad y permitirme seguir adelante con mis metas personales y profesionales.

Agradecimiento adecuado al personal de laboratorio Farmacia y bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, por brindarme las facilidades y la colaboración, para poder desarrollar la investigación dentro de sus instalaciones. De igual manera al área de microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo, por la ayuda brindada durante el desarrollo de la investigación.

A todos los docentes de nuestra facultad por su denodado esfuerzo por nosotros y constante apoyo para formar buenos estudiantes y buenos profesionales.

INDICE GENERAL

Carátula.....	I
Jurado.....	II
Dedicatoria (opcional).....	III
Agradecimiento (opcional).....	IV
Índice General.....	V
Lista de Tablas.....	VIII
Lista de Figuras.....	IX
Resumen (español).....	X
Abstracts (ingles).....	XI
CAPITULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	1
1.1 Planteamiento del problema	1
1.2 Formulación del problema.....	2
1.2.1 Problema general.....	2
1.2.2 Problemas específicos.....	2
1.3 Objetivos de la investigación.....	2
1.3.1 Objetivo general.....	2
1.3.2 Objetivos específicos.....	2
1.4 Justificación de la investigación.....	3
CAPITULO II. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1 Antecedentes.....	4
2.2 Bases teóricas.....	10
2.3 Hipótesis.....	20

CAPITULO III. METODOLOGÍA.....	21
3.1 Tipo de Investigación.....	21
3.2 Nivel de Investigación	21
3.3 Diseño de Investigación	22
3.4 Población y muestra.....	22
3.4.1 Población	22
3.4.2 Muestra (Tamaño de muestra y muestreo).....	23
3.5 Variables. Definición y Operacionalizacion.....	24
3.6 Técnicas e instrumentos de recolección de información	26
3.6.1 Descripción de técnicas	26
3.6.2 Descripción de instrumentos	26
3.6.3 Validación	26
3.6.4 Confiabilidad	26
3.7 Método de análisis de datos	33
3.8 Aspectos Éticos.....	34
CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSION	35
4.1 Resultados	35
4.1.1 Presentacion descriptiva del resultado	35
4.2 Discusión	41
CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	43
5.1 Conclusiones	43
5.2 Recomendaciones	44

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	45
ANEXOS.....	49
Anexo 01. Matriz de Consistencia.....	49
Anexo 02. Instrumento de recolección de información.....	50
Anexo 03. Formato de consentimiento informado.....	51
Anexo 04. Declaración Jurada.....	53
Anexo 05. Evidencia de ejecución	54

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de la semilla de <i>Theobroma cacao</i> y la hoja de <i>Moringa oleifera</i> sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	35
Tabla 2: Comparación del tamaño de los halos de inhibición (mm) del extracto Hidroetanólico de la semilla de <i>Theobroma cacao</i> al 50 % y 75 % con Clorhexidina 0,12 % y Etanol 70°, sobre a <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	37
Tabla 3: Comparación del tamaño de los halos de inhibición (mm.) del extracto hidroetanólico de la hoja de <i>Moringa oleifera</i> al 50 % y 75 % con Clorhexidina 0,12 % y Etanol 70°, sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	39

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de la semilla de *Theobroma cacao*, en las concentraciones al 50 %, 75 %, c+ y c- sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, Trujillo-2019. Mediante el diámetro (mm) de los halos de inhibición del crecimiento

..... 36

Figura 2: Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de la semilla de *Theobroma cacao*, en las concentraciones al 50 %, 75 %, c+ y c- sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, Trujillo-2019. Mediante el diámetro (mm) de los halos de inhibición del crecimiento

..... 38

Figura 3: Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de la hoja de *Moringa oleifera*, en las concentraciones al 50 %, 75 %, c+ y c- sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, Trujillo-2019. Mediante el diámetro (mm) de los halos de inhibición del crecimiento

..... 40

RESUMEN

La investigación tuvo como **Objetivo:** Comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de la semilla de *Theobroma cacao* y la hoja de *Moringa oleifera* sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, **Metodología:** La población estuvo conformada por cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. El diseño metodológico fue experimental puro, prospectivo, transversal y analítico de tipo cuantitativo y nivel explicativo. Para el estudio se recolectaron frutos del *Theobroma cacao* y hojas de *Moringa oleifera*, luego fueron transportadas al laboratorio de Farmacología para realizar los extractos hidroetanólico al 50 % y 75 %. Luego fueron enfrentadas a las cepas de *Enterococcus faecalis* en el laboratorio de Microbiología. Se usó el método de Kirby Bauer, luego se midió el halo de inhibición utilizando la regla milimetrada Vernier digital. **Resultados:** Mostraron que, a mayor concentración, más se incrementa el halo inhibitorio de los extractos hidroetanólicos. El extracto hidroetanólico de *Theobroma cacao* al 50 % obtuvo una medida de 15.74 ± 0.467 mm y al 75 % obtuvo una medida de 19.37 ± 0.760 mm Y el extracto hidroetanólico de la hoja de *Moringa oleifera* al 50 % se obtuvo una medida de 11.82 ± 0.545 mm y al 75 % obtuvo una medida 17.01 ± 0.818 mm. Se aplicó la prueba ANOVA, encontrando ($P= 0.000$) que existe diferencia estadística significativa entre los cuatro tipos de concentraciones. **Conclusión:** el extracto hidroetanólico de la semilla de *Theobroma cacao* al 75 % presentó mayor efecto antibacteriano frente a *Enterococcus faecalis* que las otras tres concentraciones.

Palabras clave: Antibacteriano, Cacao, Farmacología, *Enterococcus faecalis*, *Moringa Oleifera*.

ABSTRACTS

The objective of the research **was:** To compare the antibacterial effect of the hydroethanolic extract of the seed of *Theobroma cacao* and the leaf of *Moringa oleifera* on *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. **Methodology:** The population was made up of strains of *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. The methodological design was experimental. pure, prospective, transversal and analytical of a quantitative type and explanatory level. For the study, fruits of *Theobroma cacao* and leaves of *Moringa oleifera* were collected, then they were transported to the Pharmacology laboratory to make 50% and 75% hydroethanolic extracts. Then they were confronted with the *Enterococcus faecalis* strains in the Microbiology laboratory. The Kirby Bauer method was used, then the inhibition zone was measured using the digital Vernier millimeter ruler. **Results:** They showed that, the higher the concentration, the more the inhibitory halo of the hydroethanolic extracts increased. The hydroethanolic extract of *Theobroma cacao* at 50% obtained a measurement of 15.74 ± 0.467 mm and at 75% a measurement of 19.37 ± 0.760 mm was obtained. And the hydroethanolic extract of the *Moringa oleifera* leaf at 50% obtained a measurement of 11.82 ± 0.545 mm and at 75% a measurement of 17.01 ± 0.818 mm was obtained. The ANOVA test was applied, finding ($P= 0.000$) that there is a significant statistical difference between the four types of concentrations. **Conclusion:** the 75% hydroethanolic extract of *Theobroma cacao* seed presented a greater antibacterial effect against *Enterococcus faecalis* than the other three concentrations.

Keywords: Antibacterial, Cocoa, Pharmacology, *Enterococcus faecalis*, *Moringa Oleifera*.

CAPITULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACION

1.1 Planteamiento del problema

El presente trabajo se ha enfocado por los problemas que suceden en la actualidad, por causa de la bacteria *Enterococcus faecalis*, la cual es común que se encuentre asociada a infecciones intrarradiculares y al fracaso del tratamiento endodóntico. Aunque no se conoce el mecanismo exacto por el cual llega al sistema de conductos radiculares, se considera un oportunista capaz de sobrevivir, colonizar e infectar gracias a su compleja maquinaria de virulencia y resistencia ambiental. La frecuencia de *E. faecalis* en infecciones endodónticas primarias es del 4% mientras que en lesiones periapicales persistentes se presenta con una frecuencia del 77%, siendo capaz de sobrevivir como microorganismo único o como mayor componente de la biopelícula, causando fracasos en el tratamiento endodóntico.¹

Enterococcus faecalis, es el factor principal involucrado con el fracaso en el procedimiento endodóntico es la insistencia de la infección microbiana en los conductos radiculares¹. Los microorganismos involucrados pueden haber sobrevivido a los efectos de la colocación del procedimiento biomecánicos que se da durante la realización de dicho tratamiento² o pueden haber irrumpido los conductos, como consecuencia de las filtraciones que se da en la corona de los dientes con procedimientos de conducto obturados. También se ha especificado aislamientos de infecciones pulpo-periapicales y de bolsas periodontales. Investigaciones han manifestado que el microbiota de, los dientes con fracasos en el tratamiento endodóntico difieren generalmente en los conductos de dientes no tratados. El microorganismo que se localiza en los dientes con fracaso en el procedimiento endodóntico es predominantemente anaerobia, facultativa y Gram positiva, llamado *Enterococcus faecalis* es el factor que se aísla con más frecuencia.³

Estudios han demostrado el efecto antimicrobiano del extracto hidroetanólico de *Theobroma cacao* y la hoja de *Moringa oleifera*, sin embargo, es escasa la literatura científica que presente su efecto antibacteriano sobre *Enterococcus faecalis*. Por ello, el presente estudio tuvo el propósito de comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de la semilla de *Theobroma cacao* y la hoja de *Moringa oleifera* sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

1.2 Formulación del problema

1.2.1 Problema general

¿Existe efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de la semilla de *Theobroma cacao* y la hoja de *Moringa oleifera* sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, Trujillo – 2019?

1.2.2 Problemas específicos

1. ¿Cuál es el tamaño de los halos de inhibición (mm.) del extracto hidroetanólico de la semilla de *Theobroma cacao* al 50% y 75% con Clorhexidina 0,12% y Etanol 70°, sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.?
2. ¿Cuál es el tamaño de los halos de inhibición (mm.) del extracto hidroetanólico de la hoja de *Moringa oleifera* al 50% y 75% con Clorhexidina 0,12% y Etanol 70°, sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.?

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo general:

Comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de la semilla de *Theobroma cacao* y la hoja de *Moringa oleifera* sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

1.3.2 Objetivos específicos:

1. Comparar el tamaño de los halos de inhibición (mm.) del extracto hidroetanólico de la semilla de *Theobroma cacao* al 50% y 75% con Clorhexidina 0,12% y Etanol 70°, sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.
2. Comparar el tamaño de los halos de inhibición (mm.) del extracto hidroetanólico de la hoja de *Moringa oleifera* al 50% y 75% con Clorhexidina 0,12% y Etanol 70°, sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

1.4 Justificación de la investigación

1.4.1. Teórica

El presente estudio se justifica de manera teórica debido a que en este estudio se colocará información necesaria en las bases teóricas sobre el efecto antimicrobiano del extracto hidroetanólico de *Theobroma cacao* y hoja de *Moringa oleifera* frente al problema que existe en los fracasos endodónticos debido a la bacteria *Enterococcus faecalis* y la necesidad de tratamiento, con el propósito de que el lector tenga un mejor conocimiento sobre dicho tema. Asimismo, se encontrarán antecedentes relacionados al tema el cual nos servirá para comparar con los resultados que se obtendrán en este estudio.

1.4.2. Practica

El presente estudio tiene el propósito de evaluar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de la semilla de *Theobroma cacao* y la hoja de *Moringa oleifera* sobre *Enterococcus faecalis*. Este estudio podría servir de base para futuros estudios de nivel aplicativo, para elaborar enjuagatorios, productos de limpieza de prótesis o posibles irrigantes endodónticos.

1.4.3. Metodológica

Se tenía como fin tener conocimientos más exactos sobre la realidad y problemática epidemiológica de los problemas que existe en la cavidad oral teniendo en cuenta el diseño metodológico que fue experimental puro, prospectivo, transversal y analítico de tipo cuantitativo y nivel explicativo, y utilizando un instrumento de recolección de datos validado.

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

Internacionales:

Albán K.⁴ (Ecuador, 2017). “Actividad antimicrobiana de extractos de subproductos de café *Coffea arabica* y cacao *Theobroma cacao*.” La actual investigación tuvo como **objetivo:** dar a conocer el potencial antimicrobiano de pulpa de café procedente de la parroquia Vilcabamba y cacao en polvo proporcionado por la empresa TULICORP .-.Se obtuvieron extractos mediante maceración con EtOH (alcohol etílico) absoluto, EtOH: H₂O (50/50) y H₂O a diferentes temperaturas (20°C,40°C y 60°C) y se evaluó su actividad frente a *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus Faecalis*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus* y *Candida albicans*. **Tipo de estudio:** mediante técnicas de sensibilidad in vitro. **Población y muestra:** como difusión en agar y microdilución en caldo. **Material y método:** Como controles positivos para el primer método se usó: discos de gentamicina, amikacina, voriconazol y nistatina y para el segundo método se empleó gentamicina, terbinafina e Itraconazol. **Resultados:** Los extractos de caco EtOH a 20°C y mezcla EtOH: H₂O a 20°C, 40°C y 60°C **conclusión:** presentaron halos de inhibición entre 6 y 7 mm frente a *Micrococcus luteus* indicando resistencia a una dosis de 80 mg/mL y mediante el método de microdilución en caldo, presentó un CMI a 4000 µg/mL considerando los extractos inhibidores débiles .

Suczhañay M, Álvarez P.⁵ (Ecuador, 2016), “Efecto antimicrobiano de extractos acuosos de cáscara y semillas de cacao (*Theobroma cacao*) sobre cepa de *Streptococcus Mutans*: Estudio in vitro.” **Objetivo:** Evaluar el efecto antimicrobiano de extractos acuosos de cáscara y semillas de cacao (*Theobroma cacao*) sobre el *Streptococcus mutans*. **Materiales y métodos:** En el presente estudio experimental la muestra estuvo constituida por 20 placas petri inoculadas con *Streptococcus mutans* ATCC 25175 los cuales fueron reactivados por 24 horas a 35 +/- 2°C en agar sangre. Para la obtención de los extractos acuosos se realizó el método de reflujo, utilizando agua destilada como solvente, los extractos se concentraron al 12,5% y al 20%. **Resultados:** No existieron

diferencias significativas entre la media del halo de inhibición del extracto acuoso de cáscara y de semilla al 12.5% ($p=0,27$) y al 20% ($p= 0.94$), por lo que estos dos extractos presentan igual efecto antimicrobiano. **Conclusiones:** Los extractos acuosos de cáscara y semilla de cacao presentaron efecto antimicrobiano sobre *Streptococcus Mutans*.

Salcedo M.⁶ (Qito, 2017), “Efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de Moringa (*Moringa oleífera*) en concentraciones de 25 %, 50 %, 75 % y 100 % sobre *Streptococcus mutans*.” **El objetivo:** del estudio fue el efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de las hojas, sobre cepas de *Streptococcus mutans*. El extracto de moringa se obtuvo mediante método de percolación; se utilizó como solvente una solución alcohólica de agua y etanol, posteriormente se realizaron las diluciones requeridas es decir al 25 %, 50 % 75 % y 100 %. **Material y método:** Se aplicó el método KirbyBauer (método de difusión en agar) para la evaluación antimicrobiana, en el estudio se utilizó una cepa estandarizada de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. La cepa fue sembrada en 15 cajas Petri en medio de cultivo Agar Mueller Hinton suplementado con sangre de cordero al 5 %; como control positivo se empleó clorhexidina al 0.12 % y suero fisiológico como control negativo; éstas fueron incubadas a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$, al 5% de CO_2 . Se midieron los halos producidos alrededor de los discos con cada una de las concentraciones sobre *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas, en **conclusión:** se obtuvo que las concentraciones al 75 % y 100 % mostraron efecto inhibitorio in vitro frente a *Streptococcus mutans*. Sin embargo, la clorhexidina al 0.12 % mostró mayor efecto inhibitorio in vitro que las concentraciones de extracto hidroalcohólico de hojas de *Moringa oleífera* en los grupos de estudio evaluados.

Nacionales:

Baquerizo R.⁷ (Lima – Perú, 2023), “Efecto antibacteriano del extracto de hojas de *Moringa oleífera* comparado con clorhexidina al 0,12% frente a cepas de *Streptococcus mutans* atcc 25175”. tuvo como **Objetivo:** Determinar el efecto antibacteriano del Extracto de Hojas de *Moringa oleífera* (EHMO) al 50%, 75% y 100% frente a las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. El estudio corresponde a un tipo Experimental, longitudinal, comparativo, prospectivo. Para obtener el EHMO se utilizó como disolvente Etanol, para macerar por 6 días a 32°C el material vegetal secado y molido.

Se filtró al vacío, se diluyó con alcohol puro para obtener concentraciones de 100 %, 75%, 50 %. **Método:** De difusión por discos ayudo determinar la actividad antibacteriana, se procedió a aplicar extracto etanólico de diferentes concentraciones, también a los controles positivos y negativos en los cultivos de la cepa de *Streptococcus mutans* sembradas en Agar Triticosa Soya (TSA). La incubación se realizó a 37 °C por 24, 48 y 72 horas en condiciones de anaerobiosis parcial con CO₂. **Resultado:** Se midieron en base a los halos de inhibición formados alrededor de cada disco, presentando mayor actividad en concentración de 100% con halos que oscilan de 18.13 mm en 24 horas, 16.13 mm en 48 horas y 11.20 mm en 72 horas. Mientras que al 75% solo presento actividad antibacteriana dentro de las 48 horas (15.20 mm en 24 horas, 10.00 mm en 48 horas). Al 50% la actividad antibacteriana fue (11.13 mm). Dentro de 24 horas. **Conclusión:** Las actividades del EHHMO disminuye con el tiempo en sus diferentes concentraciones según la prueba Kruskal-Wallis ($p < 0.05$).

Díaz M, Díaz R.⁸ (Perú, 2021), “Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* (moringa) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*”, su **objetivo:** es evaluar la actividad del efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*. **Métodos:** El diseño de investigación fue experimental, muestreo aleatorio simple, nivel analítico, descriptivo, enfoque cuantitativo y transversal. Se usó cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, se formó 6 grupos experimentales: grupo I: blanco con agua destilada; grupo II: etanol 70 %; grupo III: extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (EHHMO) 25 %; grupo IV: EHHMO 50 %; grupo V: EHHMO 75 % y grupo VI: Ciprofloxacino 5 µg. Se realizó análisis de varianza y se trabajó con 95 % de confianza. **Resultados:** El EHHMO fue muy soluble en etanol 70 %, en metanol y soluble en agua destilada, se identificó presencia de alcaloides, taninos, flavonoides, compuestos fenólicos, antocianinas, esteroides y/o triterpenoides. El efecto antibacteriano del EHHMO fue a dosis dependiente, en concentraciones de 25 %, 50 % y 75 %. Se obtuvo efecto antibacteriano de 51 %, 62 % y 70 % respectivamente, el efecto de ciprofloxacino fue 73 % frente a cepas de *Staphylococcus aureus*. **Conclusión:** El extracto hidroalcohólico

de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (moringa) presentó efecto antibacteriano in vitro frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* a dosis dependiente.

Santos T, Szwom R, Almeida R.⁹ (Lima, 2020), “Compuestos naturales para reducir la carga bacteriana de la cavidad oral: un artículo de revisión.” **Objetivo:** actualmente, existe una amplia gama de productos farmacéuticos que ofrecen grandes beneficios para el tratamiento de diversas enfermedades orales. La mayoría de estos productos son de origen sintético con propiedades antibacterianas, pero existen numerosos efectos secundarios asociados con su uso. **Resultados:** una alternativa es el uso de productos naturales de plantas e insectos en la reducción de la carga bacteriana de la cavidad oral como la manzanilla (*Chamaemelum nobile* (L.) All.), el cacao (*Theobroma cacao* L.), el aloe (*Aloe vera* L.), la moringa (*Moringa oleifera* Lam.), el orégano (*Origanum vulgare* L.), coco (*Cocos nucifera* L.), ajo (*Allium sativum* L.), clavo (*Syzygium aromaticum* L.), cardamomo (*Elettaria cardamomum* L.), stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni), miel de abeja y propóleos, abordados en esta revisión de la literatura. Esta revisión intenta abordar el uso de diferentes compuestos naturales para reducir la carga bacteriana de la cavidad oral. **Conclusión:** existen varios estudios sobre los efectos de los productos naturales por parte del hombre en la medicina, donde hay una gran cantidad de trabajos y publicaciones relacionadas con sustancias naturales con ingredientes activos para reducir la carga bacteriana de la cavidad oral.

Arévalo O.¹⁰ (Perú, 2018), “Efecto antibacteriano y citotóxico de dos extractos metanólicos a base de *Moringa oleifera* (moringa) y *Azadirachta indica* (neem) sobre cepas de *Enterococcus faecalis*.” El **Objetivo:** Evaluar in vitro el efecto antibacteriano y citotóxico de dos extractos metanólicos de *Azadirachta indica* y *Moringa oleifera* sobre cepas de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). “Métodos: Los “extractos metanólicos de *Azadirachta indica* y *Moringa oleifera* fueron preparados in vitro. El efecto antibacteriano de los extractos frente a cepas de *Enterococcus faecalis* fueron evaluados por medio de la técnica de difusión en agar (perforación en gel). La concentración mínima inhibitoria (CMI) se determinó por el método de microdilución y la citotoxicidad usando la línea celular MDCK. **Resultados:** El extracto metanólico que obtuvo mayor efecto antibacteriano en 24 y 48 horas frente al *Enterococcus faecalis* fue la *Moringa*

oleifera, obteniendo un halo de 35.5 ± 1.05 y 44.83 ± 0.98 , respectivamente. La CMI para ambos extractos fue de 75 $\mu\text{g/ml}$. El efecto bactericida para el extracto de *Azadirachta indica* fue a concentración de 25 $\mu\text{g/ml}$ y para el extracto de *Moringa oleifera* fue de 75 $\mu\text{g/ml}$. **Conclusiones:** Se demostró que los extractos metanólicos de *Azadirachta indica* y *Moringa oleifera* tienen efecto antibacteriano contra cepas de *Enterococcus faecalis* a las 24 y 48 horas. Ninguno de los dos extractos resultó ser tóxico sobre líneas celulares a bajas concentraciones.

Poma E.¹¹ (Perú, 2018), “Efecto antimicrobiano del extracto etanólico de cascara de cacao (*Theobroma cacao L.*) a diferentes concentraciones en muestras microbiológicas de piezas dentales con caries de pacientes que acuden al centro de salud ciudad nueva. Tacna 2018”. El trabajo tuvo como **Objetivo:** Determinar el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de cascara de cacao (*Theobroma cacao L.*) a diferentes concentraciones en muestras microbiológicas de piezas dentales con caries de pacientes que acuden al Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna en el año 2018. **Metodología:** El diseño de la investigación es descriptivo, de corte transversal. En donde se tomaron 12 muestras microbiológicas de piezas dentales con caries, en donde se aplicó el extracto etanólico de cáscara de cacao (*Theobroma cacao L.*) a diferentes concentraciones; con un patrón de crecimiento microbiano de 0,5 de la escala de Mac Farland, mediante el método de Kirby Bauer y según la escala de Duraffourd Lapraz se determinó el efecto antimicrobiano. **Resultados:** Se observó halos de inhibición en las siguientes concentraciones: 5mg/ml = 9,4mm; 10mg/ml = 11,4mm; 15mg/ml = 16,6mm; 20mg/ml = 19,6mm; 25mg/ml = 20,2mm; 30mg/ml = 22,7mm. **Conclusión:** Se concluye que el extracto etanólico de cáscara de cacao a diferentes concentraciones presenta efecto antimicrobiano sobre el crecimiento de las bacterias presentes en la caries dental.

Local:

Ruiz D.¹² (Trujillo, 2019), “Comparación del efecto antibacteriano entre el extracto y colutorio a base de semilla de *Theobroma cacao* frente a cepas de *streptococcus mutans* atcc 25175, Trujillo – 2018”. Tuvo como **Objetivo:** comparar la diferencia del efecto antibacteriano entre los extractos hidroetanólicos y el colutorio a base de semilla de *Theobroma cacao* frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. **Metodología:**

El diseño fue experimental, transversal, analítico y prospectivo de tipo cuantitativo y nivel explicativo. **Ficha de recolección de datos:** Para este estudio se recolectó frutos del *Theobroma cacao* en la ciudad de Juanjuí, San Martín; las cuales fueron transportadas al laboratorio de Farmacognosia para realizar el extracto de 12.5 %, 25 %, 50 % y el colutorio al 12.5 %”. Luego fueron enfrentadas a las cepas de *Streptococcus mutans* en el laboratorio de Microbiología. Se usó el método de Kirby Bauer, luego se midió el halo de inhibición utilizando la regla milimetrada Vernier digital marca Mitutoyo. Los **resultados:** mostraron que a mayor concentración, más se incrementa el halo inhibitorio de los extractos hidroetanólicos, es decir, aumenta la efectividad antibacteriana; siendo el colutorio de 12.5 % más efectivo” que los extractos hidroetanólicos de 12.5 %, 25 %, 50 % .En **Conclusión:** El colutorio de 12.5 % a base de semillas de *Theobroma cacao* presenta mayor efectividad antibacteriana que los extractos hidroetanólicos a base de semillas de *Theobroma cacao* frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Chero V.¹³ (Pimentel, 2018), “Comparación del efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso e hidroetanólico de hojas de *Moringa oleifera* sobre *Streptococcus mutans* atcc 35668”. Tuvo como **objetivo:** comparar el efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso e hidroetanólico de hojas de *Moringa oleifera* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 35668. Se evaluó el efecto en 6 grupos distribuidos en concentraciones de 76 mg/mL, 38 mg/mL y 19 mg/mL para cada tipo de extracto. Se hicieron 8 repeticiones por grupo experimental. La sensibilidad bacteriana se evaluó mediante el método de difusión en pozo. El espécimen bacteriano fue reactivado en caldo nutritivo, para inocularlo en cultivo Agar Cerebro Corazón. Al enfrentar el microorganismo a los extractos hidroetanólicos, en los **resultados:** se obtuvo halos promedios de inhibición de 17,96 y 15,27 mm para las concentraciones de 76 mg/ml y 38mg/ml; sin embargo, los extractos acuosos no presentaron halos de inhibición. En **conclusión:** los extractos hidroetanólicos de 76mg/ml y 38mg/ml tienen efecto antibacteriano sobre *S. mutans* ATCC 35668.

2.2 Bases teóricas

2.2.1. Microbiología del fracaso endodóntico

Casi 700 especies bacterianas pueden ser encontradas en la cavidad oral, cualquier persona puede albergar de 100-200 de estas especies, haciendo muy probable si no se tienen los cuidados y técnicas apropiadas la contaminación en el conducto. Una vez que el canal de la raíz está infectado, progresa apicalmente, lo que conduce a la periodontitis apical. Las infecciones endodónticas tienen una naturaleza polimicrobiana, con bacterias anaerobias que se encuentran predominando en el microbiota en infecciones primarias. Existen varios microorganismos relacionados con infecciones e implicados en la infección persistente intrarradicular.¹⁴

Los factores de virulencia pueden dar pistas importantes en la patogenicidad. Los productos potencialmente perjudiciales liberados o las propiedades que poseen ciertas especies pueden jugar un papel importante en el desarrollo de la enfermedad. Los posibles patógenos endodónticos tienen una producción potencial de factores de virulencia, pero no se sabe si estos factores se producen in vivo. Algunos estudios han informado del descubrimiento de factores de virulencia en los conductos radiculares infectados, incluyendo lipopolisacáridos, enzimas y metabolitos que se han asociado con signos y síntomas de enfermedad. Sin embargo, aún no se conoce qué especies, dentro del sistema de conductos, producen esos factores.¹⁵

Existen unos requisitos para el patógeno endodóntico, los cuales son necesarios para que un microorganismo se establezca por él mismo en el sistema de conductos y participe en la patogénesis de la enfermedad perirradicular:

1. El microorganismo debe presentarse en un número suficiente para iniciar y mantener la enfermedad perirradicular.
2. El microorganismo debe presentar factores de virulencia, los cuales deben expresarse durante la infección del conducto radicular.

3. El microorganismo debe estar localizado espacialmente en el sistema de conductos desde el cual él o sus factores de virulencia puedan llegar a los tejidos perirradiculares.
4. El ambiente del conducto debe permitir la supervivencia y crecimiento del microorganismo y proporcionarle señales que estimulen la expresión de los genes de virulencia.
5. La inhibición de los microorganismos debe estar ausente o presente en bajo número en el ambiente del conducto radicular.
6. El hospedador debe montar una estrategia defensiva en los tejidos perirradiculares, inhibiendo la propagación de la infección. Este proceso tendrá como resultado el daño tisular.

Entre las infecciones intrarradiculares primarias encontramos anaerobios estrictos y anaerobios facultativos. En la primera se hallan los bacilos Gram-negativos (*Porphyromonas*, *Prevotella*, *Mitsuokella*, *Fusobacterium*, *Selenomonas*), bacilos Gram-positivos (*Eubacterium*), cocos Gram-negativos (*Peptostreptococcus*), cocos Gram-positivos (*Veillonella*), espiroquetas (*Treponema*). Por otra parte, los anaerobios facultativos son: cocos Gram-positivos (*Streptococcus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*), bacilos Gram-negativos (*Campylobacter*, *Eikenella*, *Capnocytophaga*), bacilos Gram-positivos (*Lactococcus*, *Actinomyces*).¹⁵

2.2.2. Fracaso del tratamiento endodóntico

Las principales causas del fracaso del tratamiento endodóntico, es por el motivo de la eliminación incompleta del tejido pulpar y los microorganismos presentes en el sistema de canales radiculares.¹⁶ En la mayoría de los casos, el fracaso del tratamiento de endodoncia es resultado de la acción de los microorganismos que persisten en la porción apical del sistema de canales radiculares, incluso en los dientes bien tratados. Se ha demostrado que parte del espacio del canal radicular a menudo permanece intacto durante la preparación quimio-mecánica, independientemente de la técnica y de los instrumentos empleados. Zonas sin instrumentar pueden contener bacterias o restos de tejido necrótico, aunque la obturación de los canales radiculares parezca ser

radiográficamente adecuada. Dentro del sistema de canales, las bacterias se encuentran ubicadas en áreas como istmos, ramificaciones, deltas, irregularidades de los canales y túbulos dentinarios.¹⁷

Sin la instrumentación biomecánica, los irrigantes o los medicamentos no son capaces de alcanzar dichos sitios, es probable que el suministro de nutrientes para las bacterias situadas ahí permanezca inalterado después de la terapia radicular. Sin embargo, las bacterias presentes en áreas tales como los túbulos dentinarios pueden tener un sustrato reducido drásticamente. En tales regiones anatómicas, las bacterias aisladas por el relleno radicular por lo general mueren. A pesar de esto, algunas especies bacterianas pueden sobrevivir durante periodos relativamente largos. Así, si el relleno radicular falla, proporcionando un sello incompleto, la filtración de fluidos desde el tejido periapical puede proporcionar sustrato para el crecimiento bacteriano. Lo mismo puede ocurrir si se produce alguna filtración desde coronal.¹⁷

Según las condiciones presentes en los canales radiculares, ciertas bacterias son más capaces de sobrevivir y multiplicarse que otras. Así, aun cuando es posible encontrar anaerobios facultativos en dientes con necrosis pulpar, es más frecuente encontrar anaerobios estrictos en canales infectados de manera primaria (es decir, sin tratamiento endodóntico previo y con pulpa necrótica) y anaerobios facultativos en los casos de tratamientos de endodoncia fallidos.¹⁸

La flora microbiana presente en los canales después del fracaso del tratamiento de endodoncia se limita a un pequeño número de especies microbianas, predominantemente Gram positivas. Anaerobios facultativos, especialmente *Enterococcus* spp, son los más frecuentes en estos casos y entre ellos, *Enterococcus faecalis* es la especie más frecuentemente aislada. Estudios han demostrado que la frecuencia de especies de *Enterococcus* en raíces obturadas que presentan periodontitis apical puede llegar incluso a un 70%.¹⁹

2.2.3. Enterococcus faecalis

Enterococcus faecalis es una bacteria inmóvil, anaerobia facultativa y fermenta la glucosa sin producir gas. No presenta una reacción con la catalasa en presencia de peróxido de hidrógeno, puede producir una reacción pseudocatalasa si se cultiva en agar sangre, sin embargo, ésta es muy débil. *E. faecalis* puede vivir en ambientes extremos que incluyen pH altamente alcalino de 9,6 y elevadas concentraciones de sal.²⁰

Enterococcus faecalis puede causar infecciones comprometidas en humanos, especialmente en ambiente de hospital. La existencia de *Enterococcus* se potencia porque ha tenido la habilidad de adquirir resistencia a prácticamente todos los antibióticos en uso.²¹

La gran mayoría de las especies de *Enterococcus* habitan normalmente en el tracto gastrointestinal, y se encuentran en una concentración de más de 10⁷ organismos por gramo de heces fecales. Son miembros del microbiota natural del tracto genital femenino y no representan daños para el organismo en condiciones normales. Sin embargo, en ocasiones se comportan como patógenos oportunistas y pueden causar diferentes enfermedades, sobre todo en aquellos pacientes que han sido hospitalizados por períodos prolongados o sometidos a terapia antimicrobiana previa, que los convierte en un importante patógeno nosocomial.²¹

Enterococcus faecalis es un patógeno oportunista asociado con infecciones orales, entre ellas periodontitis marginales, infecciones del canal radicular y lesiones perirradiculares. Se ha informado una correlación entre la prevalencia de este microorganismo en los canales radiculares de infecciones endodónticas primarias y secundarias y la presencia de este microorganismo en otros sitios de la cavidad oral, como en el surco gingival, la mucosa bucal, el dorso de lengua y las amígdalas en un mismo paciente, sugiriendo que la invasión de los canales radiculares por parte del microorganismo proviene de otros reservorios de la cavidad oral donde se encuentra en forma habitual.²²

Enterococcus faecalis tiene la habilidad de trasladarse desde el canal radicular de dientes infectados al sistema de ganglios linfáticos submandibulares de ratones libres de gérmenes, lo que sugiere que este microorganismo puede desempeñar un rol en la

patogénesis de las infecciones oportunistas como bacteremia, endocarditis, y meningitis bacteriana, entre otras.²³ También se ha informado de importantes enfermedades sistémicas provocadas por la llegada de este patógeno al torrente sanguíneo a través de la terapia endodóntica, entre ellas abscesos cerebrales y septicemias, particularmente graves en pacientes inmunocomprometidos.²⁴

El hipoclorito de sodio sigue siendo un irrigante eficaz tanto a concentración de 2.5% como a concentración de 5% lo que ha sido comprobado a través de diversas investigaciones. A pesar de los efectos irritantes que causa el hipoclorito de sodio sobre los tejidos blandos y sus limitantes en el uso de tratamientos endodónticos, tiene la propiedad de contrarrestar la carga microbiana de los conductos radiculares, dentro de los que esta *Enterococcus faecalis*.²⁵

2.2.4. *Theobroma cacao*

Actualmente se está buscando productos naturales que puedan tener actividad antimicrobiana, disminuyendo los efectos colaterales de los productos convencionales. El cacao es originario de las selvas del Amazonas, cacao viene de la palabra maya “Ka'kaw”. Pertenece a la familia Malvaceae, al género *Theobroma*, que significa el “alimento de los dioses”, a la especie *Theobroma cacao* L, tiene 22 especies descritas, ubicadas principalmente en Sudamérica y partes de Centroamérica.²⁶

Las semillas del cacao son consideradas la materia prima para las industrias debido a que se obtienen productos semielaborados como, pasta de cacao, cacao en polvo y manteca de cacao dicha pasta de cacao al igual que la cáscara de cacao son empleados como alimento de animales o en la jabonería.²⁶

Desde su descubrimiento se han desarrollado más de cien usos medicinales del cacao. Los tratamientos que utilizan los recursos del árbol del cacao sirven para curar o aliviar el cansancio, la delgadez extrema, la fiebre, los problemas cardiacos, la anemia o los problemas renales e intestinales. El fruto es ideal para tratar tumoraciones de la piel, mientras que la resina obtenida de la cáscara es empleada en las heridas como cicatrizante para mordeduras de serpiente, por otro lado, las semillas se usan para detener hemorragias, curar la anemia y la fiebre.²⁷ En varios países la manteca de cacao es

empleada para curar quemaduras, resequedad en la piel, sarampión, fiebre, reumatismo y es conocida por su propiedad antiséptica.

Los granos de cacao son las semillas del árbol *Theobroma cacao*. Cada semilla consta de dos cotiledones y del pequeño embrión de la planta, todos cubiertos por la piel (cáscara). Los cotiledones almacenan el alimento para el desarrollo de la planta y dan lugar a las dos primeras hojas de la misma cuando la semilla germina.²⁷

La composición física y química de los granos de cacao y de sus subproductos es muy compleja, cambiando a lo largo del crecimiento del grano, y dependiendo del proceso al cual éste es sometido.²⁸

A los flavonoides del cacao se le aplica efectos antioxidantes, debido a la disminución del riesgo de difusión por enfermedades coronarias, también pueden evitar el cáncer, por la posibilidad de controlar las reacciones de oxidación de LDL o daños de ADN.²⁸

Una alimentación rica en cacao afecta con una gran capacidad en el procedimiento de la enfermedad periodontal, ya que este elimina el estrés oxidativo de las lesiones periodontales. Y de manera particular se le implica un papel anticariogénico ya que inhibe la glucosiltransferasa del *Streptococcus mutans*, obstaculizando el proceso de adhesión.²⁸

El flavonoide se caracteriza por mostrar una estructura de 3 anillos, que incluye 2 anillos aromáticos y un heterociclo oxigenado central. Algunos, autores concuerdan que el cacao muestra, flavonoides como la epicatequina, también mencionan la aparición de catequina y procianidina, además señala que la epicatequina en el cacao se da en mayores porcentajes, correspondiente al 92%, igual a una proporción 11:1 más que la catequina.²⁹

Las epicatequinas y catequinas muestran las bases fundamentales para el estudio de procianidinas, las mismas que se dan por la actuación de la enzima polifenoloxidasas, que une de 2 a 10 unidades de epicatequinas, de modo que las procianidinas que lucen más de 6 unidades son menos absorbidas, pues tienen impedimento en cruzar las membranas celulares. Además, a las epicatequinas del cacao se le aplica la acción “anti-glucosiltransferasa”.²⁹ Por otro lado, al colocar los granos de cacao a mayores

temperaturas, se da a cabo un desarrollo de epimerización, que se trata en el cambio de epicatequinas en catequinas.³⁰

Las catequinas son flavonoides que se califica por mostrar un mayor peso molecular, son sólidos a temperatura ambiente, se dan puntos de altas mezclas y se diluye con simplicidad en solventes polares. Son los encargados de dar el color morado a las semillas del cacao.³¹ Es muy fundamental opinar que los granos de cacao no fermentados son ricos en flavonoides, como epicatequinas y catequinas, que abarca el 12 al 18% del peso seco del grano entero, tras la fermentación de estos elementos padecen reacciones de oxidación y polimerización minimizando su contenido.³²

Las catequinas son flavonoides que se distingue por mostrar un alto peso molecular, es sólido a temperatura ambiente, muestran puntos de unión mayores y se diluyen con facilidad en solventes polares. Son los encargados de dar el color morado a las semillas del cacao.³³

Es fundamental opinar que los granos de cacao no fermentados son ricos en flavonoides, como epicatequinas y catequinas, que comprenden del 12 al 18% del peso seco del grano entero, ya que tras la fermentación estos componentes padecen reacciones de oxidación y polimerización reduciendo su contenido.³³

2.2.5. Moringa Oleifera

Moringa oleífera, pertenece a la familia Moringaceae, es nativo de las estribaciones meridionales del Himalaya actualmente se cultiva prácticamente en todas las regiones tropicales, subtropicales y semiáridas del mundo.³⁴

Ha sido utilizado por los Antiguos romanos, griegos y egipcios quienes empleaban este árbol debido a su rápido crecimiento para usos medicinales e industriales tradicionales.

Durante siglos se lo ha defendido por poseer una fuente excepcional de proteína altamente digerible, Ca, Fe, Vitamina C y Carotenoides.³⁴

A esta planta se le atribuyen valiosas propiedades que la hacen de gran interés para los científicos, prácticamente todas las partes de Moringa oleífera han sido utilizadas por el hombre. Las hojas, las flores, los frutos y las raíces son consideradas de gran importancia

por su alto valor nutricional y pueden ser usados tanto en la alimentación humana como en el animal.³⁴

- NOMBRE CIENTÍFICO: García Roa 2013 Lo menciona como “Moringa oleífera Lam”.³⁴
- NOMBRE COMÚN: En América Latina y en el mundo son: marango, teberinto paraíso blanco, acacia, árbol de las perlas, chinto borrego, flor de jacinto, paraíso de España, paraíso extranjero, perlas, perlas del Oriente, san jacinto, libertad, árbol de mostaza, , árbol rábano picante.³⁴

También llamada árbol de la vida es una planta medicinal que oprima un elevado contenido de vitaminas y minerales como hierro, carotenoides, quercetina, vitamina C, polifenoles, ácido clorogénico, entre otros, que le proporciona un fuerte efecto antioxidante y antiinflamatorio. Es utilizada para aliviar algunas enfermedades respiratorias, disminuir la ansiedad, e inclusive controlar la glucosa sanguínea en diabéticos.³⁵

Su nombre científico es Moringa oleifera, y su parte más utilizada es la hoja, es donde se halla la mayor concentración de antioxidantes, que pueden ser consumidas ya sea en forma de té, cápsulas o polvo, pudiendo ser comprada en tiendas de productos naturales, herbolarios, tiendas en internet y farmacias de manipulación.³⁵

Esta planta contiene muchos beneficios, algunos de ellos todavía se encuentran en estudio, sin embargo, los principales son:³⁵

1. Aumenta la capacidad respiratoria, ayudando a combatir enfermedades como el asma;
2. Previene la diabetes, posee propiedades que ayudan a regular el estrés oxidativo, lo que reduce los niveles de azúcar en la sangre, mejorando la protección contra el daño celular;

3. Protege el corazón, evitando la absorción de colesterol en el intestino y la formación de placas de grasa en las arterias, disminuyendo así el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares;
4. Regula la presión arterial, mejora la circulación sanguínea por su efecto vasodilatador;
5. Ayuda en la pérdida de peso por contener fibras y elevada cantidad de proteínas que ayudan a aumentar la sensación de saciedad;
6. Previene y combate la anemia, debido a que sus hojas poseen una elevada cantidad de hierro (105 mg por cada 100 g), favoreciendo al aumento de los glóbulos rojos;
7. Aumentar las defensas del organismo debido a que posee sustancias antioxidantes como polifenoles, vitamina C y betacaroteno que incentiva el sistema inmune;
8. Posee efecto antiinflamatorio y analgésico debido a que contiene isotiocianatos, quercetina y ácido clorogénico, que son sustancias que ayudan a disminuir el proceso inflamatorio, aliviando los síntomas de enfermedades como el reumatismo, inflamación de la próstata, por ejemplo;
9. Protege e hidrata la piel, debido a que contiene vitaminas B1, B2, B3, B6, C, E y A, favoreciendo la cicatrización de la piel;
10. Mejora la salud del sistema digestivo, previniendo o tratando úlceras estomacales y ayudando a combatir el estreñimiento por su alto contenido de fibras;

11. Ayuda a tratar las hemorroides, debido a que mejora la circulación sanguínea causando un efecto vasodilatador;
12. Mejora la visión gracias a su elevado contenido de beta-caroteno, el cual es un componente precursor de la vitamina A;
13. Ayuda a disminuir los efectos de la menopausia, mantiene los niveles de inflamación y de estrés oxidativo durante esta etapa, favoreciendo un balance natural de las hormonas que se ven afectadas durante esta fase.
14. Las propiedades de la moringa incluyen acción antioxidante, antiinflamatoria, analgésico, antidiabética, vasodilatador, anticolinérgico, antireumático y cicatrizante.

2.2.6 Escala de Duraffourd

Según la Escala de Duraffourd es para medir la sensibilidad antibacteriana.³⁶

ESCALA DE DURAFFOURD	
CATEGORIA	PUNTAJE
Nula (-)	< 8 mm
Sensible (+)	Entre 9 y 14 mm
Muy Sensible (++)	Entre 15 y 20 mm
Sumamente Sensible (+++)	>20 mm

2.3 Hipótesis:

Hi: Existe efecto antibacteriano del extracto Hidroetanólico de la semilla de *Theobroma cacao* y la hoja de *Moringa oleifera* sobre *Enterococcus faecalis* atcc 29212, Trujillo – 2019.

Hipótesis nula:

H0: No existe efecto antibacteriano del extracto Hidroetanólico de la semilla de *Theobroma cacao* y la hoja de *Moringa oleifera* sobre *Enterococcus faecalis* atcc 29212, Trujillo – 2019.

Hipótesis alterna:

H1: Si existe efecto antibacteriano del extracto Hidroetanólico de la semilla de *Theobroma cacao* y la hoja de *Moringa oleifera* sobre *Enterococcus faecalis* atcc 29212, Trujillo – 2019.

CAPITULO III: METODOLOGÍA

3.1 Tipo de Investigación:

- Experimental, Puesto que el investigador ha manipulado la variable independiente y su efecto sobre la variable dependiente.³⁷ En el estudio se manipuló las concentraciones del extracto Hidroetanólico de la semilla de Theobroma cacao y la hoja de Moringa oleifera.
- Prospectivo, el investigador registra los eventos a partir de los hechos ocurridos.³⁷ Este estudio midió cada resultado según los objetivos propuestos y se colocó en la ficha de recolección de datos.
- Transversal, porque la información fue tomada en un momento dado del tiempo.³⁷ Este estudio midió el efecto antibacteriano a las 48 horas de ser expuestos a los extractos.
- Analítico, Establece que este tipo de estudio plantea y pone a prueba hipótesis, y su nivel básico establece la asociación entre dos o más variables.³⁷

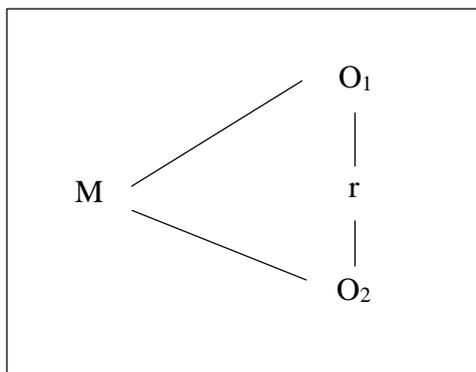
3.2 Nivel de investigación:

La actual investigación es de nivel explicativo

- Explica el comportamiento de una variable en función de otra(s); por ser estudios de causa-efecto requieren control y debe cumplir otros criterios de causalidad. El control estadístico es multivariado a fin de descartar asociaciones aleatorias, casuales o espurias entre la variable independiente y dependiente.⁴⁴

3.3 Diseño de investigación:

- El diseño del presente trabajo de investigación es experimental: experimento puro de grupos en paralelo. Se toman grupos, luego a cada grupo se le miden a cada uno por separado.³⁷



Donde:

M = Muestra

O₁ = Variable 1

O₂ = Variable 2

r = Relación de las variables de estudio.

3.4 Población y Muestra

3.4.1 Población

Estuvo conformada por el conjunto de placas Petri con siembra adecuada de *Enterococcus faecalis* con diferentes concentraciones del extracto Hidroetanólico de la semilla de *Theobroma cacao* y la hoja de *Moringa oleifera*, en el laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo, provincia de Trujillo, Departamento la Libertad.

Criterios de selección:

Criterios de inclusión:

- Placas Petri con siembra adecuada de cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.
- Placas Petri con el contenido extracto Hidroetanólico de la semilla de *Theobroma cacao* y la hoja de *Moringa oleifera* que presenten inhibición o no del crecimiento bacteriano.

Criterios de exclusión

- Se excluirá las placas Petri con signos de contaminación.

3.4.2 Muestra:

La muestra estuvo conformada por 10 repeticiones de cada una de las concentraciones al 50% y 75%; del extracto hidroetanólico de *Theobroma cacao* y la hoja de *Moringa oleifera*, al ser un estudio in vitro el tamaño de la muestra se determinó mediante fórmula estadística.

Tamaño de muestra:

El tamaño de muestra para el presente estudio de comparación de grupos se determinará utilizando la siguiente fórmula:

Estadística que valida el diseño experimental, Donde:

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

Dónde:

$Z_{\alpha/2} = 1.96$; es un coeficiente de confianza del 95%

$Z_{\beta} = 0.84$; es un coeficiente de la distribución normal para una potencia de prueba del 80%

$\sigma_{\delta}^2 = 0.8 (\bar{X}_1 - \bar{X}_2)$ valor asumido por no haber información previa completa de estudios similares (\bar{X} , S)

Luego Reemplazando los valores en la fórmula anterior se obtiene:

$$n = \frac{(1.96 + 0.84)^2 * 2 * [(X1-X2)]^2 * (0.8)^2}{(X1-X2)^2}$$

$$n = 2.82 * 2 * 0.64$$

$$n = 10 \text{ repeticiones}$$

Es decir, se necesitó aproximadamente 10 placas o discos experimentales seleccionados aleatoriamente para cada grupo.

3.5 Variables. Definición y Operacionalización

- a. Variable independiente:
 - Extracto hidroetanólico de *Theobroma cacao*.
 - Extracto hidroetanólico de *Moringa oleifera*.
- b. Variable dependiente:
 - Efecto antibacteriano frente a cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICIÓN OPERATIVA	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	CATEGORÍAS O VALORACIÓN
Extracto Hidroetanólico de la semilla de <i>Theobroma cacao</i>	Para determinar las características químicas de la semilla de los cacaos, (<i>Theobroma cacao</i>)	—	Concentración (%)	Cuantitativa Razón	50% 75%
Extracto Hidroetanólico de la hoja de <i>Moringa oleifera</i>	Para determinar las características químicas de la hoja de <i>Moringa oleifera</i>	—	Concentración (%)	Cuantitativa Razón	50% 75%
Efecto antibacteriano sobre <i>Enterococcus faecalis</i> .	Capacidad de eliminar e inhibir el crecimiento y desarrollo bacteriano.	—	Halos de inhibición	Cuantitativa Razón	1.-Nula (-) para un diámetro inferior a 8 mm. 2.- Bajo sensibilidad (entre 8 a 14 mm). 3.-Medio sensibilidad (para un diámetro entre 14 a 20mm.) 4.- Sumamente sensible (diámetro superior a 20 mm)

3.6 Técnicas e instrumentos de recolección de información

3.6.1 Descripción de técnicas

Se realizará la observación y medición de los halos de inhibición generados, se realizará con la ayuda de elementos técnicos tales como instrumentos de recolección de datos.

3.6.2 Descripción de instrumentos

Para la medida de los halos de inhibición se utilizará la regla de Vernier digital marca Mitutoyo, Modelo 500 – 196-20 ABSOLUTE Digimatic Caliper 0-150 mm /0-6”, por estar calibrado con ISO de calidad 17025.

Para el registro de la información, utilizará una Ficha de recolección de datos de llenado simple (elaborado por el autor).

Procedimientos

Obtención del extracto Hidroetanólico de la semilla de cacao

1. Recolección e identificación taxonómica

5 kg de frutos de cacao, se recolectaron, En el centro poblado de Jerillo, distrito de Jepelacio, provincia de Moyobamba, se recolectó 11 frutos de cacao. Se envolvió en papel Kraft y se transportara en cajas de madera, bien selladas vía terrestre.

Un ejemplar completo de la planta se llevará al Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo para su identificación y posterior verificación taxonómica.

Se solicitó certificado de buenas prácticas ecológicas del material vegetal *Theobroma cacao*.

2. Preparación de la muestra

-Selección: Los frutos de cacao recolectados fueron transportados al laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, en donde se seleccionaron aquellos frutos en buenas condiciones.

-Lavado y desinfección: Los frutos fueron lavados y desinfectados hipoclorito de sodio al 0.5 %. Posteriormente los frutos se cortaron de manera vertical y se separará las semillas. Luego se lavaron las semillas con agua para separar el mucílago.

-Secado: las semillas son colocadas sobre papel Kraft y sometidas a secado primero a temperatura ambiente por 24 horas, y luego en la estufa de circulación de aire a una temperatura de 40°C.

-Tostado: Una vez secado las semillas, estas se llevarán a tostar a 140°C por 10 minutos, que permitirá el proceso de epimerización que permitirá la transformación de epicatequinas en catequinas. Luego del tostado se dejará enfriar las semillas de cacao por 10 minutos.³⁸

-Pulverización: Las semillas tostadas se pulverizaron con ayuda de un molino.

-Tamizaje: Los polvos de las semillas, fueron tamizados utilizando el tamiz N° 0.7.

-Almacenamiento: Los polvos de semilla tamizados, fueron guardados en frascos de vidrio de color ámbar de boca ancha.

3. PREPARACIÓN DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE SEMILLA DE CACAO. (51,11)

Se pesarán con exactitud 400 g de polvo de semilla de cacao, previamente tamizados. Luego se colocarán, en un balón de vidrio de 2 litros de capacidad y se añadirán 500 mL de la mezcla etanol-agua (80:20). Se mezclarán bien, y se llevarán a reflujo por 2 horas. Transcurrido el tiempo, se enfriará y se filtrará el extracto hidroetanólico al vacío, con papel de filtro Whatman N° 1.

Posteriormente, el extracto hidroetanólico se concentrará en un rotavapor hasta obtener extracto blando. Luego se llevará a secar a la estufa de circulación de aire a

40 °C hasta obtener el extracto seco. A partir del extracto seco se preparará las concentraciones de 50 % (500 mg/mL) y 75% (750mg/mL) disueltos en la mezcla etanol-agua (80:20). Finalmente, los extractos Hidroetanólico se guardarán en frascos de vidrio de color ámbar y en refrigeración (4-8°C) hasta su posterior utilización.

Obtención del extracto Hidroetanólico de la hoja de Moringa Oleifera

1. Recolección e identificación taxonómica:

7 kg de hojas de Moringa, se recolectaron, En la Ciudad de Chepén, capital del distrito y la provincia homónimos en el departamento de La Libertad. Se envolvió en papel Kraft y se transportó en cajas de cartón.

Un ejemplar completo de la planta se llevará al Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo para su identificación y posterior verificación taxonómica.

Se solicitó certificado de buenas prácticas ecológicas del material vegetal Moringa oleifera.

2. Preparación de la muestra:

Selección: Las ramas de Moringa recolectados fueron transportados al laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, en donde las hojas fueron seleccionadas teniendo en cuenta que estén en buenas condiciones.³⁹

Lavado y desinfección: Luego se procedió a lavar las hojas con agua destilada, seguido de una desinfección utilizando hipoclorito de sodio a una concentración de 200 ppm. Durante 5 minutos. Posteriormente se realizó un enjuague de las hojas con suficiente agua destilada estéril, esto es para retirar los residuos de hipoclorito.³⁹

Secado: Las hojas se llevaron a secar a una estufa de circulación de aire por convección forzada a una temperatura de 40°C.

Pulverización: Una vez secadas las hojas se pulverizaron con ayuda de un molino.³⁹

Tamizaje: El material obtenido de la pulverización, se pasó a través del tamiz N° 0.75.³⁹

Almacenamiento: El polvo de las hojas obtenidas, se guardó en frascos de vidrio de color ámbar de boca ancha.

PREPARACIÓN DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE LA HOJA DE MORINGA OLEIFERA

– Se pesaron con exactitud 100 g de polvo de hojas previamente tamizadas. Luego se colocaron en un frasco de vidrio de color ámbar de boca ancha, de capacidad de 4 litros y se añadieron etanol: agua (7:3) cantidad suficiente hasta cubrir la muestra por sobre 2 cm de altura. Se mezclará bien, teniendo en cuenta que la mezcla debe ocupar como máximo las $\frac{3}{4}$ partes del recipiente. Se tapó el recipiente y se maceró por 7 días, agitándose 15 minutos, dos veces al día.

– Transcurrido el tiempo de maceración, se filtró el macerado en una bomba al vacío con papel de filtro Whatman N° 4.³⁹

– La solución resultante fue llevada a sequedad en una cámara de secado al vacío a una presión reducida y a una temperatura de 40 °C; luego se pesó el residuo seco y se guardó en refrigeración a 2 °C en frasco de vidrio de color ámbar estéril. De este residuo seco, se prepararon las concentraciones de 50% (500 mg/mL) y 75% (750 mg/mL) disueltas en etanol: agua (7:3) respectivamente. Finalmente, los extractos hidroetanólico de las hojas fueron guardados en frascos de vidrio de color ámbar y en refrigeración (4-8°C) hasta su posterior utilización.³⁹

OBTENCIÓN DE CEPAS DE ENTEROCOCCUS FAECALIS

Evaluación del efecto inhibitorio del extracto hidroetanólico de la semilla de *Theobroma cacao* y la hoja de *Moringa oleifera* sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

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

Para este estudio se utilizará cultivo liofilizado de la cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

La reactivación se realizará sembrando el cultivo liofilizado en un balón de 50 ml con 25 mL de Caldo Brain Heart Infusion (BHI) o Infusión Cerebro Corazón, luego se incubará a 37°C por 48 horas en condiciones de microaerofilia.

Para evaluar pureza se sembrará por estría en Agar *Enterococcus* e incubará a 37°C por 48 horas en condiciones de microaerofilia. Posteriormente se elegirá una colonia compatible con *Enterococcus* para realizar coloración gram.

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

4. Preparación de las concentraciones del extracto hidroetanólico de la semilla de *Theobroma cacao* y la hoja de *Moringa oleifera* sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

A partir del extracto hidroetanólico obtenido se procederá a preparar las concentraciones de 50 y 75% del extracto de *Theobroma cacao* y la Hoja de *Moringa oleifera*.

5. Evaluación del efecto antibacteriano mediante el método de Kirby Bauer.

Se realizará mediante el método Kirby Bauer, de difusión en agar. Para lo cual se procederá de la siguiente manera:

Estandarización del inóculo de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. La cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, mantenidos en Caldo BHI se sembrarán en Agar TSA, e incubará bajo condiciones de microaerofilia 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 colocará en caldo BHI y se harán suspensiones con una turbidez semejante al tubo número 0.5 del Nefelómetro de Mac Farland (1.5×10^8 bact./mL).

6. Inoculación

Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo (1×10^8 ufc/ml), se tomará una alícuota de 100 µl y se colocaran en cada una de las placas con Agar Müeller Hinton, con un hisopo estéril sumergido en la suspensión se distribuirá la suspensión bacteriana en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo en la placa. Se dejará secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido.

7. Preparación de los discos con el extracto hidroalcohólico de la semilla de Theobroma cacao.

Se prepararán discos de papel filtro whatman número 3 estériles, los cuales serán embebidos con 30 uL de cada una de las concentraciones de 50 y 75% del extracto hidroetanólico. Luego, con una pinza estéril, los discos serán colocados sobre las placas de Müeller Hinton inoculadas con la cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

8. Incubación

Se incubarán las placas en posición invertida dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de las sustancias a evaluar, a 37°C durante 24 y 48 horas en microaerofilia se utilizarán jarra Gaspak con el método de la vela.

9. Lectura de los resultados

Después del tiempo de incubación 24 a 48 horas se examinará cada placa y se medirán los diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento alrededor de cada disco para lo cual se utilizará regla milimetrada, abarcando el diámetro del halo.

Se realizarán 10 repeticiones de cada concentración.

3.7 Método de análisis de datos

Para analizar la información se construyó tablas de frecuencia de una entrada con sus valores absolutos, se calculó la media y desviación estándar de la variable cuantitativa y gráfica.

Para determinar si existe diferencia de los diámetros de los halos de los diferentes tratamientos se empleó el análisis de variancia de un diseño completamente al azar.

Luego se realizó una prueba de comparación múltiples utilizando la prueba de Duncan. Ambas pruebas con un nivel de significancia al 5%.

El análisis del efecto antibacteriano se realizó según la escala de Duraffourd.

3.8 Aspectos Éticos

La investigación presenta datos reales, investigados y elaborados auténticamente, sin cometer copia de algún otro estudio. La información recabada mediante la aplicación del instrumento es confidencial y estrictamente solo para el estudio.⁴⁰

La investigación toma en cuenta todos los principios éticos contemplados en el Reglamento de integridad científica versión 001, aprobado por Consejo Universitario con Resolución N° 1419-2023-CU-ULADECH Católica, de fecha 26 de Octubre de 2023.⁴⁰

- **Respeto y protección de los derechos de los intervinientes:** su dignidad, privacidad y diversidad cultural.⁴⁰
- **Cuidado del medio ambiente:** respetando el entorno, protección de especies y preservación de la biodiversidad y naturaleza.⁴⁰
- **Libre participación por propia voluntad:** estar informado de los propósitos y finalidades de la investigación en la que participan de tal manera que se exprese de forma inequívoca su voluntad libre y específica.⁴⁰
- **Beneficencia, no maleficencia:** durante la investigación y con los hallazgos encontrados asegurando el bienestar de los participantes a través de la aplicación de los preceptos de no causar daño, reducir efectos adversos posibles y maximizar los beneficios.⁴⁰
- **Integridad y honestidad:** que permita la objetividad imparcialidad y transparencia en la difusión responsable de la investigación.⁴⁰
- **Justicia:** a través de un juicio razonable y ponderable que permita la toma de precauciones y limite los sesgos, así también, el trato equitativo con todos los participantes.⁴⁰

**CAPITULO IV:
RESULTADOS Y DISCUSION**

4.1 Resultados:

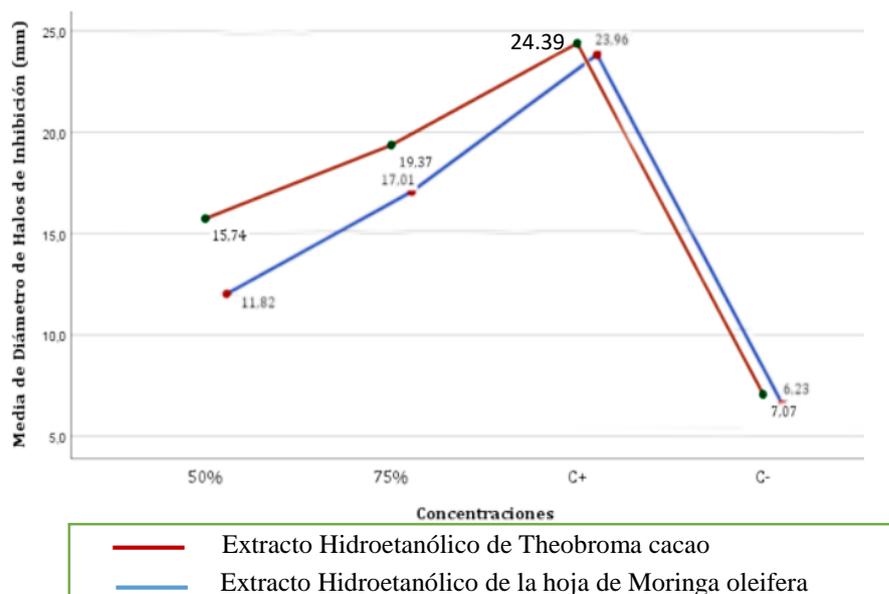
Tabla 1: Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de la semilla de *Theobroma cacao* y la hoja de *Moringa oleifera* sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

	Concentraciones	f	Promedio	Desv. Estándar	Mínimo	Máximo
Theobroma cacao	50%	10	15,74	0,467	15,0	16,4
	75%	10	19,37	0,760	18,0	20,3
	C+	10	24,39	0,515	23,6	25,2
	C-	10	7,07	0,157	6,8	7,4
Moringa oleifera	50%	10	11,82	0,545	10,50	12,30
	75%	10	17,01	0,818	15,80	17,90
	C+	10	23,96	0,481	23,20	24,54
	C-	10	6,23	0,292	6,00	7,00

P = 0,0000

p*: prueba ANOVA

Fuente: Ficha de recolección de datos



Fuente: Datos de la tabla 1

Figura 1: Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de la semilla de *Theobroma cacao* y la hoja de *Moringa oleifera* sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Interpretación: Se comparó el efecto antibacteriano entre los extractos hidroetanólicos de la semilla de *Theobroma cacao* y la hoja de moringa frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, en concentraciones de 50 % y 75 %, C+ y C-. El extracto hidroetanólico de semilla de *Theobroma cacao*; teniendo el control positivo un promedio de diámetro de $24,39 \pm 0,515$ mm; seguido de la concentración al 75 % de extracto de semilla de cacao, con un promedio de diámetro de $19,37 \pm 0,760$ mm; la concentración al 50 % de extracto de semilla de cacao, con un promedio de diámetro de $15,74 \pm 0,467$ mm, y el control negativo con un promedio de diámetro de $7,07 \pm 0,157$ mm. El extracto de la hoja de moringa; teniendo el control positivo: Gluconato de clorhexidina al 0,12 % un promedio de diámetro de $23,96 \pm 0,481$ mm; seguido de la concentración al 75 % de extracto de hoja de Moringa, con un promedio de diámetro de $17,01 \pm 0,818$ mm; la concentración al 50 % de hoja de Moringa, con un promedio de diámetro de $11,82 \pm 0,545$ mm, y el control negativo: Etanol con un promedio de diámetro de $6,23 \pm 0,292$ mm. Se utilizó la prueba ANOVA y se obtuvo $P = 0,0000$, lo que indica que existe diferencia estadística significativa entre los tipos de concentración.

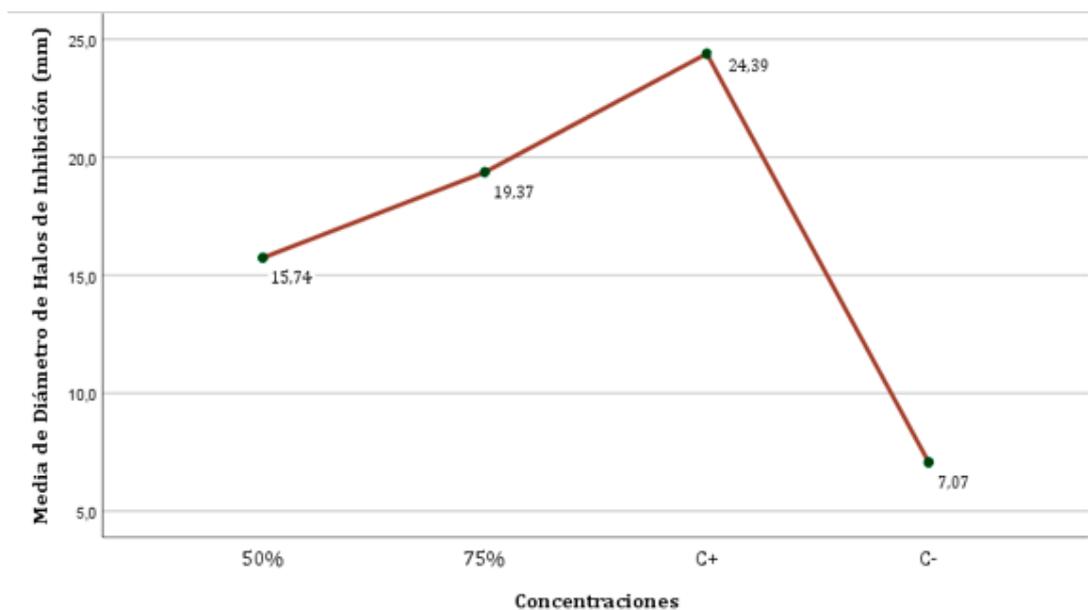
Tabla 2: Comparación del tamaño de los halos de inhibición (mm) del extracto Hidroetanólico de la semilla de Theobroma cacao al 50% y 75% con Clorhexidina 0,12% y Etanol 70°, sobre a Enterococcus faecalis ATCC 29212.

Concentraciones	f	Promedio	Desv. Estándar	Mínimo	Máximo
50%	10	15,74	0,467	15,0	16,4
75%	10	19,37	0,760	18,0	20,3
C+	10	24,39	0,515	23,6	25,2
C-	10	7,07	0,157	6,8	7,4

P = 0,0000

p*: prueba ANOVA

Fuente: Ficha de recolección de datos



Fuente: Datos de la tabla 2

Figura 2: Comparación del tamaño de los halos de inhibición (mm) del extracto Hidroetanólico de la semilla de Theobroma cacao al 50 % y 75 % con Clorhexidina 0,12% y Etanol 70°, sobre a Enterococcus faecalis ATCC 29212.

Interpretación: Se obtuvo $P = 0,0000$, lo que indica que existe diferencia estadística significativa entre los tipos de concentración. El Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de semilla de Theobroma cacao frente a Enterococcus faecalis ATCC 29212, en concentraciones de 50 % y 75 %, Control positivo y control negativo; teniendo el control positivo un promedio de diámetro de $24,39 \pm 0,515$ mm; seguido de la concentración al 75 % de extracto de semilla de cacao, con un promedio de diámetro de $19,37 \pm 0,760$ mm; la concentración al 50 % de extracto de semilla de cacao, con un promedio de diámetro de $15,74 \pm 0,467$ mm, y el control negativo con un promedio de diámetro de $7,07 \pm 0,157$ mm. Observamos que a medida que aumenta la concentración, aumenta el diámetro de halo de inhibición.

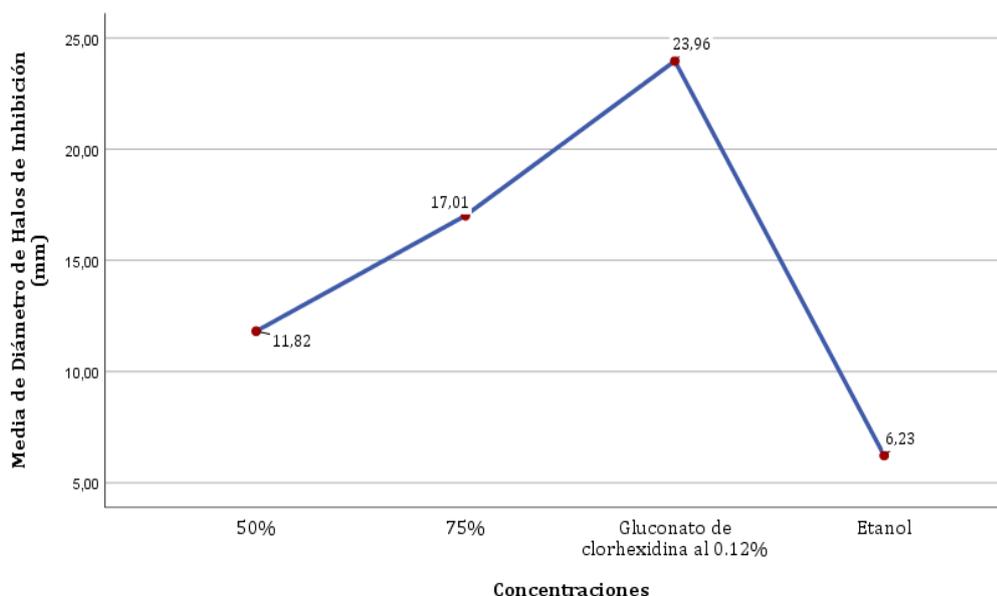
Tabla 3: Comparación del tamaño de los halos de inhibición (mm.) del extracto hidroetanólico de la hoja de Moringa oleifera al 50% y 75% con Clorhexidina 0,12% y Etanol 70°, sobre Enterococcus faecalis ATCC 29212.

Concentraciones	f	Promedio	Desv. Estándar	Mínimo	Máximo
50%	10	11,82	0,545	10,50	12,30
75%	10	17,01	0,818	15,80	17,90
Gluconato de clorhexidina al 0.12%	10	23,96	0,481	23,20	24,54
Etanol 70°	10	6,23	0,292	6,00	7,00

P = 0,0000

p*: prueba ANOVA

Fuente: Ficha de recolección de datos



Fuente: Datos de la tabla 3

Figura 3: Comparación del tamaño de los halos de inhibición (mm.) del extracto hidroetanólico de la hoja de *Moringa oleifera* al 50% y 75% con Clorhexidina 0,12% y Etanol 70°, sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Interpretación: El Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de la hoja de *Moringa* frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, en concentraciones de 50% y 75%, Control positivo y control negativo; teniendo el control positivo: Gluconato de clorhexidina al 0.12% un promedio de diámetro de $23,96 \pm 0,481$ mm; seguido de la concentración al 75% de extracto de hoja de *Moringa*, con un promedio de diámetro de $17,01 \pm 0,818$ mm; la concentración al 50% de hoja de *Moringa*, con un promedio de diámetro de $11,82 \pm 0,545$ mm, y el control negativo: Etanol con un promedio de diámetro de $6,23 \pm 0,292$ mm. Se utilizó la prueba ANOVA y se obtuvo $P = 0,0000$, lo que indica que existe diferencia estadística significativa entre los tipos de concentración.

4.2 Discusión:

En el presente estudio experimental, in vitro, se determinó el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de la semilla de *Theobroma cacao* y la hoja de *Moringa oleifera* sobre *Enterococcus faecalis* atcc 29212, trujillo-2019.

En la presente investigación se comparó la efectividad antibacteriana de los extractos hidroetanólico de la semilla de *Theobroma cacao* (cacao), a concentraciones del 50% y 75%, frente a cepas de *Enterococcus faecalis*. A medida que aumenta la concentración se obtiene mayores halos de inhibición. Así mismo la acción antibacteriana del extracto hidroetanólico al 75% fue significativamente mayor que al 50%, Datos semejantes encontró **Suczhañay M, Álvarez P. (Ecuador, 2016)¹⁰**, el cual concluyó que los extractos acuosos de cáscara y semilla de cacao presentaron efecto antimicrobiano. No existieron diferencias significativas entre la media del halo de inhibición del extracto acuoso de cáscara y de semilla al 12.5% ($p=0,27$) y al 20% ($p= 0,94$), por lo que estos dos extractos presentan igual efecto antimicrobiano.

Datos semejantes se encontró en el estudio de **Ruiz D. (Trujillo, 2019)¹³**, se realizó la comparación del efecto antibacteriano entre el extracto y colutorio a base de semilla de *Theobroma cacao* frente a cepas de *Streptococcus mutans*, se realizaron los extractos al 12,5%,25%, 50% y el colutorio al 12,5%. Lo cual se concluyó que a mayor concentración, más se incrementa el halo inhibitorio de los extractos hidroetanólicos, es decir, aumenta la efectividad antibacteriana; siendo el colutorio de 12,5 % más efectivo que los extractos hidroetanólicos de 12,5 %, 25 %, 50 %.

También se comparó la efectividad antibacteriana de los extractos hidroetanólico de la hoja de moringa oleifera, a concentraciones del 50% y 75%, frente a cepas de *Enterococcus faecalis*. A medida que aumenta la concentración se obtiene más efecto antibacteriano. Así mismo la acción antibacteriana del control positivo fue significativamente mayor que el 75%. Datos semejantes se encontró en **Salcedo M. (Qito, 2017)⁶**, el cual concluyó que los extractos al 25%, 50% 75% y 100%. Lo cual las concentraciones al 75% y 100% mostraron mayor efecto inhibitorio in vitro frente a *Streptococcus mutans*. Sin embargo, la clorhexidina

al 0.12% mostró mayor efecto inhibitorio in vitro que las concentraciones de extracto hidroalcohólico de hojas de *Moringa oleífera* en los grupos de estudio evaluados, por lo que dichos resultados son similares al estudio que se ha realizado.

Así mismo **Poma E. (Perú, 2018)**⁷, evidencio en su estudio sobre, Evaluar el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de cascara de Theobroma cacao a diferentes concentraciones en muestras microbiológicas de piezas dentales con caries; concluyo que el estudio indica un potencial prometedor para los extractos etanólicos de Theobroma cacao como alternativa. tratamiento de infecciones causadas por las cepas probadas. Por ende, dicho estudio nos dio un buen aporte para la ejecución del proyecto.

La concentración de extracto de la hoja de Moringa oleifera para prevenir el crecimiento de Streptococcus mutans según **Baquerizo R. (Lima, 2023)**¹¹. estudiaron concentraciones de extracto de hoja de *Moringa oleifera* al 100%, 50%, 75%, lo cual se concluyó que a mayor actividad en concentración de 100% con halos que oscilan de 18.13 mm en 24 horas.

Luego encontramos el efecto bacteriostático del extracto de semilla de cacao (Theobroma cacao L.) sobre el crecimiento de Streptococcus mutans in vitro.

El estudio realizado por el autor **Arévalo O. (Perú, 2018)**⁸, el cual determino que el efecto antibacteriano y citotóxico de dos extractos metanólicos a base de Moringa oleifera (moringa) y Azadirachta indica (neem) sobre cepas de Enterococcus faecalis. Se demostró que los extractos metanólicos de Azadirachta indica y Moringa oleifera tienen efecto antibacteriano contra cepas de Enterococcus faecalis a las 24 y 48 horas. Ninguno de los dos extractos resultó ser tóxico sobre líneas celulares a bajas concentraciones; Dichos resultados se asemejan al estudio que se ha realizado.

CAPÍTULO V.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- Se concluyó que las concentraciones del extracto hidroetanólico de la semilla de *Theobroma cacao* y la hoja de *Moringa oleifera* al 50% y 75%, si presentó efecto antibacteriano sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.
- El extracto hidroetanólico de la semilla de *Theobroma cacao* al 75%, presentó mayor efecto antibacteriano que las otras concentraciones frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, con un promedio de diámetro de 19.37 mm; pero no supero al efecto del control positivo (clorhexidina al 0.12%), con un promedio de diámetro de 24.39 mm.
- El extracto hidroetanólico de la hoja de *Moringa oleifera* al 75%, presento mayor efecto antibacteriano con un promedio de diámetro de 17.01 mm, que las otras concentraciones frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, pero el control positivo (clorhexidina al 0.12%), con un promedio de diámetro de 23.96 mm.
- Se concluyó que ambos extractos hidroetanólico de *Theobroma cacao* y *Moringa oleifera*, presentaron efecto antibacteriano, pero el extracto hidroetanólico de *Theobroma cacao* supero los promedios de diámetro de los extractos realizados al 50% y 75%.

5.2 Recomendaciones

- Realizar estudios de concentraciones más altas del colutorio a base de semilla de *Theobroma cacao* y *Moringa oleifera* para poder aumentar el efecto antibacteriano frente a cepas de *Enterococcus faecalis*.
- Este trabajo de investigación queda como sustento o base para nuevos estudios recomendando seguir con investigaciones acerca de estos productos naturales que es el cacao y moringa, con otro tipo de bacterias y hongos.
- Realizar colutorios, medicamentos intrarradiculares, cremas o geles a base de semilla de *Theobroma cacao* y hoja de *Moringa oleifera*.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Factores de resistencia microbiana de enterococcus faecalis asociado a los fracasos endodónticos. Revista científica Especialidades Odontológicas. Ecuador. Disponible en: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/611/6113144003/html/>
2. Siqueira J. Etiología del fracaso del tratamiento del conducto radicular: por qué los dientes tratados bien fallan. Int Endod J 2001; 34: 1-10.
3. Rodríguez C, Oporto G. Implicancias clínicas de la contaminación microbiana por Enterococcus faecalis en canales radiculares de dientes desvitalizados: Revisión de la literatura. Rev. Odont. Mex vol.19 no.3 Ciudad de México jul./sep. 2015.
4. Albán Motoche, Karla Gabriela. Actividad antimicrobiana de extractos de subproductos de café coffea arábica y cacao Theobroma cacao L. Loja-Ecuador. 2017.
5. Sucuzhañay M, Álvarez P. Efecto antimicrobiano de extractos acuosos de cáscara y semillas de cacao (Theobroma cacao) sobre cepa de Streptococcus Mutans: Estudio in vitro. Odontología Vol. 19, N° 2, Ecuador, Julio - diciembre 2016.
6. Salcedo M. Universidad central del ecuador. Facultad de odontología. Efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de Moringa (Moringa oleífera) en concentraciones de 25 %, 50%, 75% y 100% sobre Streptococcus mutans. Estudio in vitro. Quito, noviembre 2017.
7. Baquerizo R. Universidad Nacional Federico Villarreal. Efecto antibacteriano del extracto de hojas de moringa oleifera comparado con clorhexidina al 0,12% frente a cepas de streptococcus mutans atcc 25175. Lima – Peru 2023. Disponible en: file:///C:/Users/Usuario/Desktop/datos/PROYECTO%20CURSO%20DE%20TITULACION/ANTEDECENTES/UNFV_FP_Baquerizo_Aguilar_Rosemery_Titulo_profesional_2023.pdf.
8. Díaz M., Díaz R. Universidad Maria Auxiliadora. Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de moringa oleífera lam (moringa) frente a la cepa de staphylococcus aureus. Lima – Perú 2021. Disponible: <file:///C:/Users/Usuario/Desktop/datos/PROYECTO%20CURSO%20DE%20TITULACION/ANTEDECENTES/Tesis.pdf>.
9. Santos T, Szwom R, Almeida R. Compuestos naturales para reducir la carga bacteriana de la cavidad oral: un artículo de revisión. Biotempo. Lima 2020, 17(1), jan-jul.: 173183.

10. Arévalo O. Universidad peruana de ciencias aplicadas. Efecto antibacteriano y citotóxico de dos extractos metanólicos a base de *Moringa oleifera* (moringa) y *Azadirachta indica* (neem) sobre cepas de *Enterococcus faecalis*. Lima – Perú. 2017.
11. Poma E. Efecto antimicrobiano del extracto etanólico de cascara de cacao (*Theobroma cacao* L.) a diferentes concentraciones en muestras microbiológicas de piezas dentales con caries de pacientes que acuden al centro de salud ciudad nueva. Tacna 2018. Facultad de ciencias de la Salud. Perú 2018.
12. Ruiz D. Comparación del efecto antibacteriano entre el extracto y colutorio a base de semilla de *Theobroma cacao* frente a cepas de *Streptococcus mutans* atcc 25175, Trujillo – 2018. Facultad de ciencias de la salud escuela profesional de odontología. Trujillo – Perú 2019.
13. Narayanan LL, Vaishnavi C. Endodontic microbiology. *J Conserv Dent*. 2010;13(4):233-239. doi:10.4103/0972-0707.73386.
14. Pérez A, Díaz V, Algar J, Valencia O, Estévez R, Cisneros R. Actualización en microbiología endodóntica. Actualización en microbiología endodóntica. *Cient. Dent*. 2013; 10; 1: 27-39. Disponible en: <https://silo.tips/download/actualizacion-en-microbiologia-endodontica>.
15. Abella F., Mercadé M., Duran-Sindreu F., Roig M. Managing severe curvature of *radixentomolaris*: three-dimensional analysis with cone beam computed tomography *Int Endod J*, 44 (9) (2011), pp. 876-885.
16. Siqueira J. Etiología del fracaso del tratamiento del conducto radicular: por qué los dientes bien tratados pueden fallar (revisión de la literatura) *Int Endod J*, 34 (2001), pp. 1-10 .
17. Gomes B, Pinheiro E, Sousa E, Jacinto R, Zaia A, Ferraz C, y col. *Enterococcus faecalis* en los conductos radiculares dentales detectados por cultivo y por análisis de reacción en cadena de la polimerasa *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 102 (2) (2006), pp. 247-253 Epub 2006 jun 8.
18. Ozbek S., Ozbek A., Erdorgan A. Análisis de *Enterococcus faecalis* en muestras de pacientes turcos con infecciones endodónticas primarias y tratamiento endodóntico fallido mediante PCR en tiempo real Método SYBR verde *J Appl Oral Sci*, 17 (5) (2009), pp. 370-374.

19. LinkFang. *Enterococcus faecalis*. 23.02.2021 02:34:47 CET. Disponible en: https://es.linkfang.org/wiki/Enterococcus_faecalis.
20. Díaz M, Rodríguez C, Zhurbenko R. *Enterococcus*, medios de cultivo convencionales y cromogénicos. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*. vol.51 no.1 Ciudad de la Habana ene.-abr. 2013.
21. Armijo J. Presencia de *Enterococcus faecalis* en dientes con diagnóstico de periodontitis apical asintomática. Universidad de Chile facultad de odontología. Santiago – Chile 2011.
22. Torabinejad y Walton, *Endodoncia, principios y práctica*, 4º Edición, Elsevier España, 2010.
23. *Enterococcus faecalis* [Internet]. *Es.wikipedia.org*. 2017 [cited 21 June 2017]. Available from: https://es.wikipedia.org/wiki/Enterococcus_faecalis.
24. Ribeiro Sobrinho AP, Barros MHM, Nicoli JR. Canal de raíz experimental infecciones en ratones convencionales y libres de gérmenes. *J Endod*. 24 (6): 405 - 408. (1998).
25. Sánchez Ruiz F, Taketoshi Furuya Meguro A, Arroniz Padilla S, Gómez Moreno A. Comparación de la acción bactericida de hipoclorito de sodio y Microcyn 60. Vol. 13, Núm. 1; marzo 2009.
26. Cuéllar, O. Obtención del extracto polar etanol:agua (1:1) de la cáscara de cacao y evaluación de su actividad antibacteriana. (2010).
27. Corporacion de Promocion de Exportaciones, C. Perfil del Cacao y sus Elaborados. (2009).
28. Food-Info.net : ¿Cuál es la composición (física y química) de los granos, de la manteca, de la masa y del polvo de cacao? [Internet]. *Food-info.net*. 2017 [cited 24 November 2017]. Available from: <http://www.food-info.net/es/qa/qa-fp48.htm>.
29. Paredes S. & Fernandez A. Polifenoles de aplicación en farmacia: Metabolismo y acción biológica. *Offarm*, 24, 85-94. (2005).
30. Sánchez, I., & Rubio, A. Atención Farmacéutica en la Enfermedad Periodontal (y II) Plantas Medicinales. *Offarm*, 29(4), 62-67. (2010).
31. Rawel, H. y Kulling, S. Contribución nutricional de fenólicos de café, cacao y té a la salud humana. *Journal fur Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 2, 399-406. (2007).

32. Kofink M, P. M. (2007). Catequina en coca y chocolate: ocurrencia y análisis de un anátomo de flavan-3-ol atípico. *Moléculas*. 12, 1274-88.
33. Cala, M., & Vásquez, Á. (2008). Estudio Comparativo por electroforesis capilar y cromatografía de alta eficiencia de catequinas extraídas de plantas de la familia Labiaceae, y determinación de su actividad antioxidante. Universidad Industrial de Santander: Tesis de grado para optar el título de Química.
34. Torres, M. Determinación de la actividad antioxidante de los extractos clorofórmico, etanólico y acuoso del arrayán, calaguala, canayuyo, y tipo. Riobamba. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo: Tesis de grado previa la obtención del título de Bioquímico Farmacéutico. (2012).
35. Salcedo M. Universidad central del ecuador. Facultad de odontología. Efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de Moringa (*Moringa oleífera*) en concentraciones de 25 %, 50%, 75% y 100% sobre *Streptococcus mutans*. Estudio in vitro. Quito, noviembre 2017.
36. Morillo C. Eficacia inhibitoria del aceite esencial de *Cymbopogon Citratus* sobre cepas de *Porphyromona Gingivalis*: Estudio in vitro. 31/dic/2018-Ecuador.
37. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la investigación. 6^a ed. México: Interamericana; 2014.
38. Zapata S, Tamayo A, Alberto B. Efecto del tostado sobre los metabolitos secundarios y la actividad antioxidante de clones de cacao colombiano. *Rev. Fac. Nac. Agron. Medellín*, Volumen 68, Número 1, p. 7497-7507, 2015. ISSN electrónico 2248-7026. ISSN impreso 0304-2847.
39. Braisson J. Actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Theobroma cacao* L. sobre el crecimiento y adherencia in vitro de *Streptococcus mutans* a esmalte dentario. Tesis para optar el título de Cirujano Dentista. Facultad de Odontología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú. 2016.
40. Reglamento de Integridad Científica. (V001). Chimbote: Universidad católica los Angeles de Chimbote. 2023.

ANEXOS

Anexo 01. Matriz de Consistencia

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	VARIABLE	HIPÓTESIS	METODOLOGÍA
<p>Problema General:</p> <p>¿Existe efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de la semilla de <i>Theobroma cacao</i> y la hoja de <i>Moringa oleifera</i> sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212, Trujillo – 2019?</p> <p>Problemas Específicos:</p> <p>1. ¿Cuál es el tamaño de los halos de inhibición (mm.) del extracto hidroetanólico de la semilla de <i>Theobroma cacao</i> al 50% y 75% con Clorhexidina 0,12% y Etanol 70°, sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212.?</p> <p>2. ¿Cuál es el tamaño de los halos de inhibición (mm.) del extracto hidroetanólico de la hoja de <i>Moringa oleifera</i> al 50% y 75% con Clorhexidina 0,12% y Etanol 70°, sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212.?</p>	<p>Objetivo General:</p> <p>- Comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de la semilla de <i>Theobroma cacao</i> y la hoja de <i>Moringa oleifera</i> sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212</p> <p>Objetivos Específicos:</p> <p>1. Comparar el tamaño de los halos de inhibición (mm.) del extracto hidroetanólico de la semilla de <i>Theobroma cacao</i> al 50% y 75% con Clorhexidina 0,12% y Etanol 70°, sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212.</p> <p>2. Comparar el tamaño de los halos de inhibición (mm.) del extracto hidroetanólico de la hoja de <i>Moringa oleifera</i> al 50% y 75% con Clorhexidina 0,12% y Etanol 70°, sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212.</p>	<p>Extracto Hidroetanólico de la semilla de <i>Theobroma cacao</i> y la hoja de <i>moringa oleifera</i></p> <p><i>Enterococcus faecalis</i></p>	<p>Hipótesis nula:</p> <p>H0: No existe efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de la semilla de <i>Theobroma cacao</i> y la hoja de <i>Moringa oleifera</i> sobre <i>Enterococcus faecalis</i> atcc 29212, Trujillo – 2019.</p> <p>Hipótesis alterna:</p> <p>H1: Si existe efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de la semilla de <i>Theobroma cacao</i> y la hoja de <i>Moringa oleifera</i> sobre <i>Enterococcus faecalis</i> atcc 29212, Trujillo – 2019.</p>	<p>Tipo y nivel de Investigación.</p> <p>El tipo de la investigación es cuantitativa, experimental, prospectivo, transversal y analítico. De nivel explicativo.</p> <p>Diseño de investigación</p> <p>Experimental puro</p> <p>Población y muestra</p> <p>La población y la muestra estuvo conformada por 10 repeticiones para cada grupo para las distintas concentraciones al 50% y 75%</p> <p>Muestreo no probabilístico por conveniencia</p>

Anexo 02. Instrumento de recolección de datos

extractos Concentración Repeticiones	Diámetro de los halos de inhibición según concentración del extracto hidroetanólico de cacao (mm)		C+	C-
	50%	75%	(mm)	(mm)
1.				
2.				
3.				
4.				
5.				
6.				
7.				
8.				
9.				
10.				

Fuente: Elaborado por la autora

Extractos Concentración Repeticiones	Diámetro de los halos de inhibición según concentración del extracto hidroetanólico de moringa (mm)		C+	C-
	50%	75%	(mm)	(mm)
1.				
2.				
3.				
4.				
5.				
6.				
7.				
8.				
9.				
10.				

Fuente: Elaborado por la autora

Anexo 03. Documento de aprobación de institución para la recolección de información.



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

"Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia"

Chimbote, 24 de septiembre del 2021

CARTA N° 179 - 2021 - DIR-EPOD-FCCS-ULADECH Católica

Sra.

Dra. Manuela Luján Velásquez

Encargada del laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo

Presente.-

De mi consideración:

Es un placer dirigirme a usted para expresar nuestro cordial saludo en nombre de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. El motivo de la presente tiene por finalidad presentar a la estudiante **Hernandez Rosales Stephany Carolyne**, con código de matrícula N° **1610151002**, de la Carrera Profesional de Odontología, quién solicita autorización para ejecutar de manera presencial, el proyecto de investigación titulado **"EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE LA SEMILLA DE THEOBROMA CACAO Y LA HOJA DE MORINGA OLEIFERA SOBRE ENTEROCOCCUS FAECALIS ATCC 29212, TRUJILLO-2019"**, durante los meses de septiembre, octubre y noviembre del presente año.

Por este motivo, mucho agradeceré brinde las facilidades a la estudiante en mención a fin culminar satisfactoriamente su investigación el mismo que redundará en beneficio de la comunidad odontológica. En espera de su amable atención, quedo de usted.

Atentamente,

Dr. Rojas Barrios, José Luis
Director de Escuela de Odontología - ULADECH Católica

Dra. Manuela Luján Velásquez



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

"Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia"

Chimbote, 24 de septiembre del 2021

OFICIO N° 227- 2021-EPOD-ULADECH CATÓLICA

Sra.

Dra. Marilú Soto Vásquez

Encargada de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo

Presente.-

De mi consideración:

Es un placer dirigirme a usted para expresar nuestro cordial saludo en nombre de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. El motivo de la presente tiene por finalidad presentar a la estudiante **Hernandez Rosales Stephany Carolyne**, con código de matrícula N° 1610151002, de la Carrera Profesional de Odontología, quien solicita autorización para ejecutar de manera presencial, el proyecto de investigación titulado **"EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE LA SEMILLA DE THEOBROMA CACAO Y LA HOJA DE MORINGA OLEIFERA SOBRE ENTEROCOCCUS FAECALIS ATCC 29212, TRUJILLO-2019"**, durante los meses de septiembre, octubre y noviembre del presente año.

Por este motivo, mucho agradeceré brinde las facilidades a la estudiante en mención a fin culminar satisfactoriamente su investigación el mismo que redundará en beneficio de la comunidad odontológica. En espera de su amable atención, quedo de usted. Atentamente,

Dr. Rojas Barríos, José Luis

Director de Escuela de Odontología - ULADECH católica

Dra. Marilú Soto Vásquez
Encargada de la Facultad de Farmacia y Bioquímica
Cátedra de Farmacognosia
Universidad Nacional de Trujillo

Anexo 04. Declaración Jurada

DECLARACION JURADA

Yo, Hernandez Rosales Stephany Carlyne, identificado (a) con DNI N° 75376080, con domicilio real en la calle 8 de octubre N° 568, Distrito de Florencia de Mora, Provincia Trujillo, Departamento La Libertad.

DECLARO BAJO JURAMENTO

En mi condición de Bachiller con código de estudiante 1610151002 de la Escuela Profesional de Odontología, Facultad de Ciencias de la Salud de la universidad católica Los Angeles de Chimbote, semestre académico 2023-1.

1. Que los datos consignados en la tesis titulada Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de la semilla de Theobroma cacao y la hoja de Moringa oleifera sobre Enterococcus faecalis atcc 29212, trujillo-2019.

Doy fe que esta declaración corresponde a la verdad.

Martes, 26 de Diciembre de 2023



Firma del estudiante/bachiller

DNI



Huella Digital

Anexo 05. Evidencia de ejecución

EFFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE LA SEMILLA DE THEOBROMA CACAO SOBRE ENTEROCOCCUS FAECALIS ATCC 29212.

SELECCIÓN, LAVADO Y DESINFECCIÓN



SE LAVARON LAS MAZORCAS DE THEOBROMA CACA, Y LUEGO SE SECARON



Cortando de manera vertical los frutos de cacao



SEPARANDO LAS SEMILLAS DE CACAO DE LA CÁSCARA



Semillas de cacao sobre el papel craft para secado a temperatura ambiente por 24 horas.

Lavado de las semillas de cacao para separar el mucílago



Secado de semillas de cacao en la estufa de circulación de aire a una temperatura de 40° C.



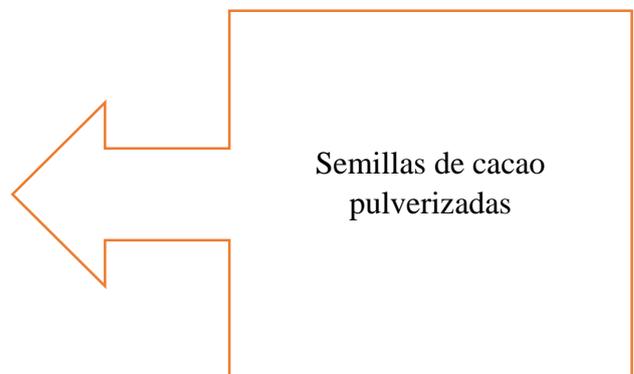
Tostado de las semillas de cacao en una sartén, removiendo con la ayuda de una cuchara de palo; por 10 minutos a 140°C.



Cacao tostado enfriando por 10 minutos.



Pulverizando las semillas de cacao con ayuda de un molino.





Polvo de semilla tamizado utilizando el tamiz 0.7 y almacenado en frasco de vidrio ámbar de boca ancha.

Preparación de extracto hidroetanólico de semilla de cacao



Se colocó el polvo de semilla de cacao en un envase color ámbar.



Realizando la mezcla etanol – agua (80:20)





Filtración del extracto hidroetanólico



Evaporación de la preparación hidroetanólico de la semilla del cacao, luego se preparó las concentraciones 50% y 75%.

SELECCIÓN, LAVADO Y DESINFECCIÓN Moringa oleifera



Se desajo la planta de Moringa oleifera, luego se lavaron y se secaron



Secado de las hojas de Moringa oleifera en la estufa de circulación de aire a una temperatura de 40° C.



Pulverizando las hojas de Moringa oleifera con ayuda de un molino.



PREPARACIÓN DE EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE LA HOJA DE MORINGA



Se colocó el polvo de la hoja de moringa oleifera en un envase color ámbar.



Realizando la mezcla etanol - agua (80:20)



Filtración del extracto hidroetanólico de la hoja de Moringa oleifera



Evaporación de la preparación hidroetanólico de la hoja de Moringa oleifera luego se preparó las concentraciones 50% y 75%.

EVALUAR EL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE LA SEMILLA DE THEOBROMA CACAO Y LA HOJA DE MORINGA OLEIFERA SOBRE ENTEROCOCCUS FAECALIS ATCC 29212

Inoculación de *Enterococcus faecalis* en las placas, se tomó 100ul u se colocaron en cada una de las placas con Agar Mueller Hinton



Con un hisopo estéril sumergido en la suspensión, se distribuirá la suspensión bacteriana en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo en la placa.

Se prepararán discos de papel filtro whatman número 3 estériles, los cuales serán embebidos con 30 uL de cada una de las concentraciones de 50% y 75% del extracto hidroetanólico de *Theobroma cacao* y al 50% y 75% del extracto hidroetanólico de *Moringa oleifera*.



Se empleó como control positivo el Gluconato de clorhexidina al 0.12% y como control negativo al etanol al 70%.

Después del tiempo de incubación 24 a 48 horas se examinará cada placa y se medirán los diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento alrededor de cada disco para lo cual se utilizará regla milimetrada, abarcando el diámetro del halo.

Se realizarán 10 repeticiones de cada concentración.

