



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO DE HOJAS DE MORINGA
OLEIFERA COMPARADO CON CLORHEXIDINA AL 0,12% FRENTE A CEPAS DE
STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175**

Línea de investigación:

Salud pública

Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

Autora:

Baquerizo Aguilar, Rosemery

Asesora:

Nicho Valladares, Miriam Kelly

(ORCID: 0000-0001-6019-2559)

Jurado:

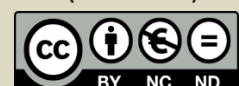
Sotomayor Mancisidor, Merce Concepción

Salazar Sebastian, Alejandro Magno

Castro Pérez Vargas, Antonieta Mercedes

Lima - Perú

2023



Reporte de Análisis de Similitud

Archivo:	1A_Baquerizo Aguilar Rosemary_Título Profesional_2023
Fecha del Análisis:	03/05/2023
Operador del Programa Informático:	Kowashiro Diaz Miludska
Correo del Operador del Programa Informático:	mkowashiro@unfv.edu.pe
Porcentaje:	25%
Asesor:	Nicho Valladares, Miriam Kelly
Título:	EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO DE HOJAS DE MORINGA OLEIFERA COMPARADO CON CLORHEXIDINA AL 0,12% FRENTE A CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175
Enlace:	https://secure.urkund.com/old/view/158597156-785724-738717#FYg7CsJAFADvknqQ99/dXEUsJKikME1K8e6uMAPDfJb3uaxXFVT+KjoxNNBCO2ZYYIkVjguuuOGzOyGEEkEKUUQj5hykkEoa6WSQSRbZyE4JZVTRklZ0ujlYwghGY/Qby7m/jv25b/djeyyrXCx8NJ001yrp+f0B

Jefe de la Oficina de Grados y Gestión del Egresado:




AMÉRICO ALEJANDRO MUNAYCO MAGALLANES



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO DE HOJAS DE MORINGA
OLEIFERA COMPARADO CON CLORHEXIDINA AL 0,12% FRENTE A CEPAS
DE STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175**

Línea de Investigación: Salud pública

Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

Autora

Baquerizo Aguilar, Rosemery

Asesora

Nicho Valladares, Miriam Kelly

(ORCID: 0000-0001-6019-2559)

Jurado

Sotomayor Mancisidor, Merce Concepción

Salazar Sebastian, Alejandro Magno

Castro Pérez Vargas, Antonieta Mercedes

Lima – Perú

2023

AGRADECIMIENTO

A la universidad y la facultad de Odontología que me acogió y me introdujo a un mundo nuevo de conocimiento y oportunidades incomparables, gracias a cada docente por su enseñanza y dedicación constituyeron en la base de mi vida profesional.

Mi gratitud a mi asesora de tesis Mg. Nicho Valladares Miriam, por haberme brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento científico, para orientarme a lo largo del proceso de la investigación de la tesis.

El desarrollo de esta tesis no fue algo fácil, pero durante su desarrollo disfrute de cada instante de la investigación, en cada proceso hubieron personas valiosas que siempre estuvieron ahí, puesto que la vida misma me enseñó que las cosas y actos de mi proceder influirán en la reciprocidad conmigo.

DEDICATORIA

Al culminar una preciosa etapa de mi vida, quiero expresar profundamente mi agradecimiento a aquellos que contribuyeron como inspiración, apoyo y fortaleza e hizo realidad mi sueño. En especial a Dios, mis adorados progenitores, mis hermanas y sobrinos. Gracias a ustedes por hacerme ver que el amor verdadero no es más que el deseo de ayudar a otro a superarse ya que siempre creyeron en mí dándome el ejemplo de superación y sacrificio.

ÍNDICE

Resumen	vi
Abstract.....	vii
I. Introducción	1
1.1. Descripción y formulación del problema	2
1.2. Antecedentes	2
1.3. Objetivos	5
1.4. Justificación.....	6
1.5. Hipótesis.....	6
II. Marco Teórico.....	7
2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación.....	7
2.1.1. Moringa Oleifera.....	7
2.1.2. Streptococcus Mutans	11
III. Método	15
3.1. Tipo de investigación	15
3.2. Ámbito temporal y espacial.....	15
3.3. Variables.....	15
3.4. Población y muestra	16
3.5. Instrumentos	17
3.6. Procedimientos	17

3.7. Análisis de datos.....	21
3.8. Consideraciones éticas	21
IV. Resultados.....	22
V. Discusión de resultados	26
VI. Conclusiones	31
VII. Recomendaciones	32
VIII. Referencias	33
IX. Anexos	41

RESUMEN

La investigación tuvo como **Objetivo:** Determinar el efecto antibacteriano del Extracto de Hojas de *Moringa oleifera* (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 Triticasa 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 EHMO disminuye con el tiempo en sus diferentes concentraciones según la prueba Kruskal-Wallis ($p < 0.05$).

Palabras clave: Streptococcus mutans, antibacterianos, clorhexidina, extractos vegetales.

ABSTRACT

Objective of the research was: To determine the antibacterial activity of the *Moringa oleifera* leaf extract (EHMO) at 50%, 75% and 100% against the strains of *Streptococcus mutans* ATCC 25175. The study corresponds to an Experimental, longitudinal, comparative type, prospective. To obtain the EHMO, ethanol was used as solvent, to macerate the dried and ground plant material for 6 days at 32°C. It was filtered under vacuum, diluted with pure alcohol to obtain concentrations of 100%, 75%, 50%. **Method:** disc diffusion helped determine the antibacterial activity, we proceeded to apply ethanolic extract of different concentrations, also to the positive and negative controls in the cultures of the *Streptococcus mutans* strain sown in Trypticase Soy Agar (TSA). Incubation was carried out at 37 °C for 24, 48 and 72 hours under partial anaerobic conditions with CO₂. **Result:** they were measured based on the inhibition halos formed around each disc, presenting greater activity at 100% concentration with halos ranging from 18.13 mm in 24 hours, 16.13 mm in 48 hours and 11.20 mm in 72 hours. While 75% only present antibacterial activity within 48 hours (15.20 mm in 24 hours, 10.00 mm in 48 hours). At 50% the antibacterial activity was (11.13 mm). Within 24 hours. **Conclusion:** EHMO activities decrease over time in its different concentrations according to the Kruskal-Wallis test ($p < 0.05$).

Keywords: *Streptococcus mutans*, anti-bacterial agents, chlorhexidine, plant extracts.

I. INTRODUCCIÓN

Existen varias investigaciones que han evidenciado que la planta *Moringa oleifera* (MO) evidencia ser eficaz antiinflamatorio, antibacteriana y anticancerígena (Jwa, 2019). Es así que los medicamentos tradicionales derivados de los extractos de estas plantas, especialmente de las hojas y semillas, pueden ser tratamientos efectivos, más barato y de menos toxicidad que los medicamentos comerciales. Por tanto, la hoja de MO tiene potencial para ser utilizado como medicamento y en alimentos. Conocer su compuesto químico y eficacia antibacteriana puede ser provechoso para obtener productos anticariogénicos y crear nuevas presentaciones dentales más activos (Awaad et al., 2011).

Por otro lado, la caries dental está estrechamente relacionada con el biofilm cariogénico, una biopelícula oral que contiene una alta proporción de *Streptococcus mutans* (Lee y Kim, 2014). Generalmente, la biopelícula oral está estructurada y funcionalmente organizada y contiene un equilibrio de la flora normal y bacterias patógenas como el *Streptococcus mutans*. Este equilibrio se puede descomponer por cambios ambientales, tales como la absorción de sacarosa y una disminución del pH, y puede aumentar el número de bacterias cariogénicas (Marsh, 1994; Marsh, 1991).

Esto puede hacer que se forme la biopelícula cariogénica por las bacterias cariogénicas *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* y *Lactobacillus acidophilus*. Entre estas bacterias, el *Streptococcus mutans* está particularmente asociado con la caries dental debido a su rápido metabolismo y fuerte tolerancia a los ácidos (Nakano et al., 2005).

Así mismo el 80 % de la población mundial, de países en desarrollo, depende de la medicina herbaria para prevenir y curar enfermedades (Ekor 2014). Por ello se estudia los efectos antibacterianos de muchas plantas contra la bacteria cariogénica *Streptococcus mutans*, siendo amplia las investigaciones y algunos de estos elementos han sido parte de experimentos en formulaciones de enjuagues bucales, pasta dental o geles, demostrando

efectos de una reducción de *Streptococcus mutans* en la saliva en formulaciones altamente concentradas (Aguilar-Ancori et al., 2018).

1.1. Descripción y formulación del problema

Conociendo el frecuente uso de la medicina herbaria es relevante saber el apropiado uso de las mismas, su concentración justo para una eficaz actividad antibacteriana, en particular por el hecho de que gran parte de las plantas utilizadas en medicina alternativa contiene flavonoides, que rompe la membrana citoplasmática e inhibiendo la actividad enzimática de las células bacterianas (Gondim, et al., 2011).

Es por ello que en la búsqueda de encontrar una solución natural nace el presente estudio, con el objetivo de demostrar la actividad antibacteriana del extracto de hojas de *Moringa oleifera* sobre las cepas de *Streptococcus mutans*, por lo cual nos formulamos la siguiente pregunta:

¿Cuál es la actividad antibacteriana in vitro del extracto de hojas de *Moringa oleifera* frente las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175?

1.2. Antecedentes

Jwa (2019) realizó un estudio con el propósito de investigar los efectos antimicrobianos de los extractos de hojas de *Moringa Oleifera* sobre *Streptococcus mutans* (SM) y la formación de biopelículas cariogénicas. El extracto de MO se obtuvo utilizando agua destilada y alcohol etílico. Se realizaron ensayos de susceptibilidad a *Streptococcus mutans* para cada extracto. La biopelícula cariogénica se formó con o sin agua destilada y extracto de alcohol etílico, y la biopelícula cariogénica se trató con ambos extractos. La biopelícula se observó mediante microscopía láser con focal y se contaron las bacterias en la biopelícula. Se obtuvo como resultados que ambos extractos mostraron actividad antimicrobiana contra *Streptococcus mutans* e inhibieron la formación de biopelículas cariogénicas. Los extractos de alcohol etílico

exhibieron actividad anti-biopelícula. Se concluyó que las hojas de *M. oleifera* pueden ser candidatas potenciales para prevenir la caries dental.

Chero (2018) realizó una investigación con el objetivo de comprobar como el extracto acuoso e hidroetanólico de hojas de MO presenta un efecto antibacteriano in vitro sobre *Streptococcus mutans* ATCC 35668. En tal sentido estimo la efectividad en 6 grupos asignados en concentraciones de 76, 38 y 19 mg/mL para las diferentes muestras de extracto. Por cada uno del grupo de experimentación realizo ocho repeticiones. Evaluó la efectividad según el método de difusión en pozo. Los resultados que obtuvieron fueron halos promedios de inhibición de 17,96 y 15,27 mm para las concentraciones de 76 y 38mg/ml; a diferencia de los extractos acuosos que no presentaron halos de inhibición. Se concluyó que los extractos hidroetanólicos de 76 y 38mg/ml presentan efectividad antibacteriano frente al *Streptococcus mutans* ATCC 35668.

Salcedo (2017) realizó un estudio con el objetivo de evaluar el efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa Oleifera*, frente a cepas de *SM* ATCC 25175. Se utilizó el método de percolación para el extracto de MO; el solvente usado para estos fines fue una solución alcohólica de agua y etanol, seguidamente se realizó las diluciones al 25, 50 75 y 100%. La valoración antimicrobiana fue con el método Kirby-Bauer (método de difusión en agar), las cepas de *SM* ATCC 25175 fue sembrada en 15 repeticiones en cultivo Agar Mueller Hinton suplementado con sangre de cordero al 5%; el control negativo se usó el suero fisiológico y la clorhexidina 0.12% como positivo; éstas fueron incubadas a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$, al 5% de CO_2 . Los resultados se midieron en 24 y 48 horas, obteniendo que las concentraciones al 75 y 100% presentaron efecto inhibitorio in vitro frente a *SM*. En tanto, que un efecto inhibitorio superior alcanzo la clorhexidina al 0.12%.

Elgamily et al. (2016) desarrollaron su estudio con el objetivo de evaluar los potenciales antibacterianos y antifúngicos de diferentes partes de la planta *Moringa Oleifera* utilizando

diferentes métodos de extracción en un intento de formular medicamentos dentales naturales a base de la planta. Se prepararon tres extractos solventes (etanol, acetona y acetato de etilo) de diferentes partes del árbol de *Moringa egipcia* y se probaron contra patógenos orales: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* y *Candida albicans* mediante el método de difusión por disco; Además, de incorporar el extracto vegetal para formular pastas dentales y enjuagues bucales experimentales. Los dos remedios dentales se evaluaron frente a las mismas cepas microbianas. El análisis estadístico se realizó usando la prueba ANOVA de una vía para comparar el diámetro de la zona de inhibición y la prueba t. Los extractos de etanol y los extractos de hojas demostraron los valores de zona de inhibición medios más altos ($P \leq 0,05$) contra el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus mutans*. Sin embargo, todos los extractos no revelaron zona de inhibición contra *Candida albicans*. Para los remedios dentales, la pasta de dientes experimental mostró una inhibición media más alta que el enjuague bucal contra *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* y solo la pasta de dientes reveló un efecto antifúngico contra *Candida albicans*. Llego a la conclusión de que los diferentes extractos de diferentes partes de *Moringa* mostraron un efecto antibacteriano contra el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus mutans*, y que la nueva pasta de dientes de extracto de hojas etanólicas tiene efectos potenciales antimicrobianos y antifúngicos en todas las cepas seleccionadas.

Priya et al. (2011) realizaron una investigación con el objetivo de estudiar la actividad antibacteriana de diferentes extractos solventes de la planta de MO mediante el método de difusión de pozos de agar contra *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella dysenteriae* y *Staphylococcus aureus* que con frecuencia causan infecciones entéricas en humanos. El benceno, el metanol y los extractos acuosos extraídos de las hojas, las semillas, corteza y la pulpa de MO mostraron una fuerte actividad antibacteriana contra todos los organismos probados como *B. subtilis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. dysenteriae* y *S. aureus*. La

zona de inhibición varió desde 7-23 mm. Se llegó a la conclusión que la planta *Moringa oleifera* se puede utilizar como fuente de fármacos orales para combatir las infecciones causadas por bacterias susceptibles.

Arévalo (2017) desarrollo su estudio con el objetivo de determinar *in vitro* tanto el efecto antibacteriano como citotóxico de dos extractos metanólicos de *Azadirachta indica* y *Moringa Oleifera* sobre cepas de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). La evaluación el efecto antibacteriano se realizó por medio de la técnica de difusión en agar (perforación en gel). Para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) se usó el método de microdilución y para medir la citotoxicidad la línea celular MDCK. El resultado que hallo el investigador fue: El extracto metanólico tuvo mayor efecto antibacteriano en 24 y 48 horas frente al *Enterococcus faecalis* fue la MOa, 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 MO fue de 75 $\mu\text{g/ml}$. En conclusión los extractos metanólicos de *Azadirachta indica* y *Moringa oleifera* tienen efecto antibacteriano en 24 48 horas frente a las cepas de *Enterococcus faecalis*, *en tanto que* ninguno de los dos extractos resultó presento toxicidad sobre líneas celulares a bajas concentraciones.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Evaluar el efecto antibacteriano del extracto de hojas de *Moringa oleifera* comparado con clorhexidina al 0,12% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

1.3.2. Objetivos específicos

Determinar los diámetros de los halos de inhibición del extracto de hojas de *Moringa oleifera* al 50%, 75% y 100% sobre las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, a las 24 horas.

Determinar los diámetros de los halos de inhibición del extracto de hojas de Moringa oleifera al 50%, 75% y 100% sobre las cepas de Streptococcus mutans ATCC 25175, a las 48 horas.

Determinar los diámetros de los halos de inhibición del extracto de hojas de Moringa oleifera al 50%, 75% y 100% sobre las cepas de Streptococcus mutans ATCC 25175, a las 72 horas.

1.4. Justificación

Debido que existen estudios enfocados en la actividad antibacteriana de muchas plantas medicinales, los resultados del presente trabajo de investigación permitirán aumentar la evidencia científica de la actividad antibacteriana del extracto de hojas de Moringa Oleifera sobre las cepas de Streptococcus mutans. Además, se busca demostrar que es una alternativa natural de la cual se podría sintetizar productos anticariogénicos y generar nuevas formulaciones dentales más eficaces en futuras investigaciones.

1.5. Hipótesis

El extracto de hojas de Moringa oleifera 50%, 75% y 100% tiene efecto antibacteriano comparado con la clorhexidina al 0,12 % frente a las cepas de Streptococcus mutans ATCC 25175

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Bases teóricamente el tema de investigación

2.1.1. *Moringa oleifera*

La MO es la especie de hábito arbóreo más cultivada de su familia, tiene un crecimiento rápido y generalmente todas las partes vegetativas (hojas, tallo, corteza, raíz) y reproductivas (flores, vainas y semillas) son aprovechadas benéficamente de alguna forma. (Agbogidi y Ilondu,2012).

La MO es un árbol tropical dicotiledóneo perenne caducifolio. El tallo es quebradizo con una corteza corcho gris blanquecina, con ramas caídas, verde pálido y bipinnadas o más comúnmente hojas tripinadas (30-70 cm de largo) dispuestas en grupos de folíolos ovalados opuestos y puede vivir hasta los 20 años (Pérez et al, 2010). Es nativo de las montañas subhimalayas del norte de la India, pero crece tanto en pises tropicales como subtropicales por su alta capacidad de resistencia a la sequía y en los últimos años se cultiva para una diversidad de propósitos (Tuyet y Thuy Hang, 2018; Daccad et al., 2019).

Se ha revisado el potencial de la *Moringa oleífera* (MO), enfatizando sus aplicaciones nutricionales para humanos y usos industriales, y también se han descrito sus métodos de propagación a través de esquejes (0.2-1.0 m de largo), con un espaciamiento de árbol a árbol recomendado de 1.2 y 5 m entre hileras (para rendimiento de vaina), para obtener la población deseable de 1666 árboles / ha. Para la producción de follaje, los esquejes se plantan con un espaciado cercano para obtener aprox. 1 millón de árboles/ha. No se recomienda la propagación a través de semillas debido a la variación genética -sustancial a través de la polinización cruzada. Siendo las temperaturas adecuadas para su crecimiento entre 25-35 ° C, con luz solar directa, a una altitud de 500 m, y en suelos ligeramente ácidos a alcalinos (PH 5.0-9.0); aunque puede tolerar un exceso de temperatura, hasta 48 ° C, helada en invierno, altitud y una gran heterogeneidad de condiciones del suelo. (Saini et al., 2016).

Las semillas de MO se pueden plantar justo después de la madurez, ya que las semillas no experimentan latencia y conservan la viabilidad hasta 1 año. La germinación es rápida entre los 6-10 d después de la siembra. El árbol comienza a producir frutos a una edad de entre seis y ocho meses, con un mínimo de frutos en el período inicial de uno a dos años (300 ó 400 vainas), sin embargo, el rendimiento aumenta en los años siguientes hasta 1600 vainas (Padilla et al., 2012; Arias, 2014).

2.1.1.1. Composición Química de la Moringa oleifera. Presenta compuestos que contienen azúcar simple, ramnosa, y es rica en un grupo bastante singular de compuestos llamados glucosinolatos e isotiocianatos. Asimismo, son ricos en una gama de vitaminas y minerales, así como otros fitoquímicos comúnmente reconocidos como Carotenoides (incluyendo β -caroteno o pro-vitamina A) (Fahey, 2005).

Las hojas de MO contienen β -caroteno, vitamina E y proteína, por lo que se puede utilizar como antioxidante, y sus semillas contienen moléculas relacionadas bioactivas, como flavonoides, isotiocianatos, glucosinolato y tocarbamato (Paikra et al., 2017).

2.1.1.2. Beneficios de la Moringa Oleifera. Las distintas partes del árbol MO, como raíces, cortezas, hojas, flores, frutos y semillas, se usan tradicionalmente en diversas aplicaciones terapéuticas, dentro de los recientes estudios han demostrado actividad biológica antiinflamatorio con extracto de semillas de MO en el tratamiento de colitis ulcerosa inducida (Minaiyan *et al.*, 2014). También evaluaron actividad antioxidante del extracto etanol de hoja de Moringa en el tratamiento de la esteatosis hepática no alcohólica inducida mediante dieta rica en grasa (Das et al., 2012).

Por su parte, Sulistyorini et al. (2015) en su investigación determinó el mecanismo de acción del extracto de hoja de MO en el tratamiento de la insulinitis pancreática inducida (Diabetes Mellitus tipo I)

Se ha evaluado también que las hojas de MO produce un efecto paliativo en un daño a nivel cardiocirculatorio y hepático en ratones que fueron sometidos a ingestas elevadas de arsénico (Moravec *et al.*, 2008). También, para valorar posteriormente la fatiga muscular frente a un ejercicio continuado utilizando extracto acuoso de hoja de Moringa oleifera (Lamou *et al.*, 2016) realizaron un estudio valorar posteriormente la fatiga muscular frente a un ejercicio continuado utilizando extracto acuoso de hoja de MO.

En efectos antibacterianos frente al género *Vibrio* (*V. cholera*, *V. vulnificus*, *V. mimicus*) estudios evaluaron la capacidad inhibitoria de extractos de hojas, semilla, tallo, vaina y flores de la moringa evidenciándose efectividad frente al crecimiento bacteriano (Nogueira *et al.*, 2015).

Así mismo, los diversos estudios de seguridad realizados en animales también fueron comprobados por los autores, concluyendo que el follaje de Moringa, las flores y los extractos de frutas ofrecen un alto grado de seguridad sin efectos adversos en los seres humanos (Saini *et al.*, 2016).

Otra forma de uso de MO, se especifica como suplementos nutritivos, como alimento, en preparados de infusiones, ungüentos, cremas, cataplasma. Asimismo, se considera eficaz como cura en tratamientos y prevención de múltiples patologías, en distintas enfermedades dentales, reproductivos, digestivos, circulatorios, de la piel, trastornos nerviosos, inflamatorios, como antimicrobiano, antiparasitario y desintoxicante entre otros. La planta es nativa de las zonas sub- Himalayas de la India, Pakistán, Bangladesh y Afganistán, siendo consumido por pobladores en su dieta y como medicamentos desde sus antepasados hasta la actualidad, (Agbogidi y Ilondu, 2012).

En la India la Moringa oleífera ha sido reconocida y aprovechada por la medicina Ayurvédica desde el año 2000 a.C. para prevenir y tratar más de trescientas enfermedades. Diferentes publicaciones científicas detallan la efectividad de las diferentes partes de este árbol

como antibiótico, antiespasmódico, cicatrizante, hipotensor, anti ulceroso, antiinflamatorio, analgésico e hipoglucemiante. Infortunadamente estos estudios en especímenes humanos no cuentan soportados por ensayos clínicos aleatorios controlados, ni han sido publicados en revistas indizadas (Fahey, 2005).

Es así, que en los últimos años la planta ancestral conocida por sus múltiples uso ha cobrado mayor relevancia en asuntos de la seguridad alimentaria, como purificador de aguas, producción de aceite y otras aplicaciones en el área de la salud, siendo valorado como el árbol de considerables beneficios que nos brinda la tierra, es por ello que se evalúa que su explotación aportara significativamente en la población, atenuando la pobreza, la seguridad alimentaria y mejorando la atención de la salud primaria (Agbogidi y Ilondu, 2012).

2.1.1.3. Cultivo y Uso de la Moringa Oleifera en el Perú. En nuestro país la moringa crece en la Costa y en la Selva, en terrenos hasta 1500 m.s.n.m., cultivándose principalmente en Ica, Piura, Lambayeque, Trujillo, Huacho, entre otras zonas. El reto de cultivar esta planta nutritiva en tierras peruanas es producto del esfuerzo de los ingenieros Chepote, Murat, y Granados, quienes desarrollaron un proyecto piloto de moringa en el fundo El Arenal, tras comprobar su adaptabilidad, se han proyectado sembrar 500 hectáreas (Guzmán, 2007).

Con el propósito de reducir los índices de desnutrición infantil y debido a su uso como complemento alimenticio por su potencial vitamínico y proteico, el Ministerio de Agricultura (MINAG) y el Instituto Trabajo y Familia a través de su Programa Sembrando incentivarán el cultivo de la moringa, planta muy nutritiva, conocida en la India y África como “el árbol de la vida”. El MINAG a través de Agro-Rural, permitió la siembra de cuatro hectáreas experimentales en Lambayeque (Villacuri) y en los fundos iqueños El Escondido y El Arenal (Cibej, 2019).

El Ministerio de Agricultura afirma la promoción continua de la siembra de este árbol en nuestro país, siguiendo las etapas de experimentación, validación y comercialización,

fundamentando que su cultivo coadyuvara a disminuir la desnutrición que aflige principalmente la niñez, y su cultivo podría masificarse en zonas de la costa y selva (Cibej, 2019).

2.1.1.4. Aplicaciones de *Moringa oleifera* en Odontología. El uso tradicional de las semillas, raíces, corteza y el látex de la MO en el alivio del dolor de dientes y caries dental es referido por Ganatra y col. En países como la India, donde la fitoterapia es una práctica cotidiana para amplios sectores de la población, se hizo un estudio de las diferentes fragmentos de la planta aplicado en odontología y se encontró que las hojas son la parte más usada (25,44%), seguida de la raíz (20,17%), fruta y semillas (18%), tallos (12,28%) y corteza (3,14%), mientras que la planta entera representa el 9,65% y el látex el 8,77%. En concordancia a su empleo y utilidad se menciona para aliviar odontalgias (29,82%), como dentífrico (25,43%), como enjuague bucal y en gárgaras (16,66%), para estomatitis, úlceras y gingivitis (28,12%) (Asare et-al., 2012) (Ganatra et al., 2012).

2.1.2. *Streptococcus mutans*

El *Streptococcus mutans* es una bacteria anaerobia facultativa y principal microorganismo asociado a la caries dental. El nombre fue dado a los *Streptococos* aislados del diente humano cariado por Clarke en 1924 (Gamboa, 2014).

Son productores de ácido láctico, ácido propiónico, ácido acético, ácido fórmico al metabolizar hidratos de carbono como sacarosa, glucosa, fructosa; estos ácidos atraviesan por la placa bacteriana hasta el esmalte poroso en el cual se disocian y liberan hidrogeniones que van a disolver el mineral del esmalte produciendo que el calcio y el fosfato se difundan fuera del esmalte proceso que se denomina desmineralización (Ojeda et al., 2013).

2.1.2.1. Morfología del *Streptococcus mutans*. Son cocos Gram Positivos, se puede hallar como coco (forma redonda) en un medio básico o como cocobacilo (forma ovalada) en

un medio ácido, no presentan movilidad; su nombre se debe a la tendencia que tiene de cambiar de forma (Gamboa, 2014).

2.1.2.2. Estructura del Streptococcus Mutans. Está formado por: un núcleo, citoplasma, membrana citoplasmática, mureína, ácidos teicoicos y lipoteicoicos, carbohidratos parietales, proteínas parietales, fimbrias, cápsula y glicocálix según (Liebaña, 2002).

- **Membrana Citoplasmática:** Estructura que se encuentra de manera obligatoria en las bacterias, se encuentra por dentro de la pared celular dentro de los componentes primordiales encontramos fosfolípidos y proteínas. Participa en la síntesis de elementos estructurales: precursores de pared celular, componentes de la cápsula, lípidos de la membrana y ADN (Liebaña, 2002).

- **Núcleo:** Está compuesto por una sola molécula circular de doble cadena de ADN, no contiene membrana nuclear. Su función principal es la de contener la información genética (Liebaña, 2002).

- **Pared Celular:** Constituye una cubierta rígida, protege de rigidez y da la forma a la bacteria. El componente elemental del que va a depender la forma, rigidez y protección, es el peptidoglicano o mureína. Otros elementos parietales son los ácidos teicoicos y lipoteicoicos (Salcedo, 2017).

- **Fimbrias:** Son filamentos rígidos que miden de 7-8 nm de diámetro, son inconstantes. Su principal característica es la capacidad de adherencia (Gonzales y Gonzales, 2019).

- **Cápsula:** Ejerce un papel protector para la bacteria, además de tener un papel fundamental en la patogenicidad y virulencia (Liebaña, 2002).

- **Glicocalix:** Es de naturaleza homopolisacárida, en el Streptococcus mutans está constituido de glucanos y fructanos (Liebaña, 2002).

2.1.2.3. Transmisión, Colonización y Estabilidad de Streptococcus Mutans en Cavidad Oral. La caries dental es una enfermedad dental transmisible en la cual los

estreptococos del grupo mutans juegan un papel principal. La enfermedad infecciosa, nace a consecuencia de la colonización de un patógeno antes de que ocurra la infección. Hay un rango de factores de virulencia importante para el establecimiento de *Streptococcus mutans* en la compleja comunidad microbiana de la biopelícula dental. Estudiar los factores de virulencia de *Streptococcus mutans* y su correlación con la biodiversidad de especies es fundamental para entender el papel que juega en la colonización por los diferentes genotipos en el mismo individuo y la expresión de las características que puedan o no influenciar su capacidad de virulencia y su habilidad para sobrevivir bajo diferentes condiciones ambientales (Ojeda et al., 2013).

2.1.3. Clorhexidina

Es un antiséptico de amplio espectro que actúa frente a bacterias Gram-negativas y Gram-positivas, aerobios, anaerobios facultativos y hongos aumentando la permeabilidad de la pared celular bacteriana, causando su lisis. Se utiliza mucho en odontología para reducir la placa dental y tratar la enfermedad periodontal (Da Costa et al., 2017).

2.1.3.1. Aplicaciones de la Clorhexidina. Está disponible como sales de acetato, clorhidrato y digluconato. Los dos primeros son poco solubles en agua y el último es soluble en agua y ha sido indicado en procedimientos dentales de rutina como enjuague bucal, gel y spray. La clorhexidina se ha recetado en el cuidado bucal para diversos fines, como el control químico de la biopelícula dental, la irrigación del conducto radicular y el tratamiento de infecciones bucales. Éstas incluyen infecciones que afectan a pacientes xerostómicos, que tienen un alto riesgo de enfermedad periodontal y caries dental, donde esta última afecta principalmente a *Streptococcus mutans* (Varoni, Tarce, Lodi y Carrassi, 2012). Además, puede considerarse un agente antifúngico alternativo para tratar la candidiasis oral (Scheibler et al., 2017).

También se ha recetado clorhexidina para reducir el riesgo de desarrollar neumonía asociada al ventilador en pacientes en cuidados intensivos (Villar et al., 2016).

2.1.3.2. Efecto de Clorhexidina frente a *Streptococcus mutans*. Entre los agentes quimioterapéuticos utilizados en enjuagues bucales, la clorhexidina es el "Gold standar" o control positivo para comparación con otras sustancias debido a su eficacia probada (Lakade et al., 2014).

El enjuague bucal de Clorhexidina (0,2%) también ha demostrado tener eficacia antibacteriana. Rindom, Briner y Loe encontraron una reducción del 30% al 50% en la población de *Streptococcus mutans* después de enjuagar con 10 ml de enjuague bucal con clorhexidina al 0,2% una vez al día (Gupta y Bhat, 2011).

Aunque eficaz, La clorhexidina al 0,12% tiene ciertos efectos secundarios como la decoloración marrón de los dientes, erosión de la mucosa oral y sabor amargo. Por tanto, es necesario un enjuague bucal alternativo que podría anular todos los efectos secundarios de clorhexidina, pero equivalente a ella (Lakade et al., 2014).

III. MÉTODO

3.1. Tipo de investigación

Experimental, longitudinal, comparativo, prospectivo.

3.2. Ámbito temporal y espacial

Centro de Control Analítico (CCA) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, en el año 2022.

3.3. Variables

3.3.1. Variable dependiente

Efecto antibacteriano: halos de inhibición del extracto de hojas de Moringa oleifera en un cultivo con Streptococcus mutans.

3.3.2. Variable independiente

Extracto de hojas de Moringa oleífera

3.3.3. Operacionalización de las variables

Variables	Definición	Definición Operacional	Indicador	Escala	Valores
Efecto antibacteriano	Capacidad que presenta una sustancia o fármaco para inhibir y/o producir la muerte de una bacteria.	Halo de inhibición en un cultivo de Streptococcus mutans	Medición del halo de inhibición.	Razón	0-X mm
Extracto de hojas de Moringa oleifera	Extracto de hojas de una planta medicinal.	Sustancias de origen natural	Concentración de la sustancia.	Nominal	50% 75% 100%

3.4. Población y muestra

La muestra para cada grupo de evaluación fue constituida según la fórmula para comparar medias y los datos fueron obtenidos del estudio de Elgamily et al. (2016).

$$n = \frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 \cdot (s_1^2 + s_2^2)}{(d)^2}$$

$$Z_{\alpha} = 1,96 \text{ (95\%)}$$

$$Z_{\beta} = 0,84 \text{ (90\%)}$$

$$S_1^2 = 1.15$$

$$S_2^2 = 1.26$$

$$d = 1.25$$

Donde:

Z_{α} = valor Z correspondiente al riesgo α fijado

Z_{β} = valor Z correspondiente al riesgo β fijado

S_1^2 = varianza del grupo 1

S_2^2 = varianza del grupo 2

d = precisión o error máximo permisible

$$n = \frac{(1,96 + 0,84)^2 (2,91)^2}{(1,56)^2}$$

$$n = 14.6$$

$$n = 15$$

La muestra contará de 15 lecturas por cada grupo experimental.

3.4.1. Criterios de inclusión

Cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Extracto de hojas de *Moringa oleifera* en soluciones del 50,75 y 100%.

3.4.2. Criterios de exclusión

Cepas de *Streptococcus mutans* que no correspondan a la codificación ATCC 25175. Extractos de hojas *Moringa oleifera* menores al 50%. Extracto de hojas de moringa al 50,75 y 100% que estén contaminado.

3.5. Instrumentos

Se utilizó la Ficha de recolección de datos (ver anexo 2)

3.6. Procedimientos

3.6.1. Procedimiento para la obtención del extracto de hojas de MO

La obtención del extracto etanólico de las hojas de *Moringa oleifera* se realizó en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM. El extracto etanólico se obtuvo siguiendo los procedimientos según la entidad de la siguiente manera:

- Se lavó las hojas y seco a temperatura ambiente.
- Las hojas se colocaron en la estufa Memmert UN55 B215.2490 a temperatura de 40°C verificando hasta que se encuentren completamente secas.
- Luego las hojas secas se trituraron hasta que estén completamente pulverizadas.
- Posteriormente se pesó 200g de las hojas pulverizadas y se dejó macerar en un frasco ámbar en la oscuridad por un periodo de 2 semanas con 1000 ml de etanol a 96°.
- Se agito el vaso beaker mecánicamente cada 6 horas
- Luego se filtró el macerado con papel filtro.
- Finalmente se procedió a concentrar el extracto en la estufa a 40°C reduciéndose hasta la tercera parte del volumen inicial (ver anexo 3)

3.6.2. Determinación de insumos

Con la finalidad de llevar a cabo los procedimientos se utilizaron los siguientes insumos:

3.6.2.1. Medios de cultivo. Caldo de cerebro-corazón marca Merck, Agar de cerebro-corazón marca Merck, Agar Mueller Hinton marca Merck.

3.6.2.2. Reactivos. Agua destilada, cloruro de sodio grado bacteriológico marca Oxoid y alcohol al 96°.

3.6.2.3. Equipos. Incubadora 35°C EQ-CCA-026 Labor LP-11 S: 69-6315/4, Autoclave Vertical Digital EQ-CCA-054 Reles AL/D 50L S: 476-15, Potenciómetro EQ-CCA-005 Inolab 730 S: 10380849, Baño María EQ-CCA-009 Memmert WNE-10 S: L307.0363, Balanza analítica EQ-CCA-037 AND HR 250 AZ S: GA7702480, Estufa EQ-CCA-001 Memmert UN55 S: B215-2490 y Mechero Bunsen.

3.6.3. Desarrollo de la fase pre analítica

Se preparó las placas Petri se envolvieron en papel craft y se esterilizaron por calor seco en una estufa a 180°C por 2 horas. Las puntas para las micropipetas, los viales de vidrio y los tubos con tapa rosca se esterilizaron con calor húmedo en autoclave a 121°C y 15 lb/pg2 durante 15 minutos.

3.6.3.1. Preparación de los medios de cultivo. Se preparó 20ml de caldo de cerebro-corazón según las instrucciones del fabricante (37 gramos para 1 litro de agua destilada) en dos tubos de ensayo y se esterilizó en autoclave. También, se preparó 100 ml de agar de cerebro-corazón según las instrucciones del fabricante (52 gramos para 1 litro de agua destilada) en un frasco de vidrio y se esterilizó en autoclave. El agar ya esterilizado se enfrió en baño María a 45-50°C y se vertió en placas Petri estériles. Luego, se preparó 0.800 ml de agar Mueller Hinton en un frasco de vidrio de acuerdo con las instrucciones del fabricante (34 gramos para 1 litro de agua destilada). Se autoclavó el agar a 121°C y 15 lb/pg2 durante 15 minutos. Inmediatamente después de autoclavar se llevó a Baño María a 45 - 50°C. Una vez temperado se vertió el preparado fresco y tibio a placas Petri de vidrio estériles, para dar un fondo uniforme de aproximadamente 4 mm, esto corresponde a 25- 30 ml para placas de 90 mm de diámetro.

El agar ya plaqueado se dejó solidificar a temperatura ambiente. El pH de cada lote de agar Mueller Hinton debe tener un pH entre 7,0-7,6. Esta medición puede realizarse sumergiendo el bulbo del electrodo del potenciómetro en el agar antes de autoclavar.

Se preparó 100ml de suero fisiológico estéril, para ello se pesó 900 mg de cloruro de sodio grado bacteriológico y se completó con agua destilada hasta un volumen de 10mL, se esterilizó en autoclave. Luego se añadió volúmenes de 10mL a 4 tubos estériles.

3.6.3.2. Activación de la cepa. Las cepas se encontraban refrigeradas entre 4-8°C en placas con agar de cerebro-corazón. - Para cada cepa se tomó una colonia con el asa bacteriológica y se sembró en tubos con caldo de cerebro-corazón estéril y se llevó a la incubadora a 37°C por 24 horas. - La turbidez demostró el crecimiento de las cepas. Se sembró del caldo de cerebro-corazón a placas con agar de cerebro-corazón. Se llevó a la incubadora a 37°C por 24 horas.

3.6.3.3. Preparación de la muestra. El extracto etanólico de las hojas de Moringa oleífera se pesó 3.1505 gramos en 3.1505 ml de agua destilada. - El extracto etanólico de moringa de consistencia líquida se procedió a trabajar a 3 concentraciones: 100%, 75% y 50%.

Para realizar las diluciones a partir del extracto de moringa se usó agua destilada y dichas diluciones se realizaron de la siguiente forma:

- 100%: extracto etanólico de moringa
- 75%: 750 ul del extracto etanólico al 100% con 250 ul de agua destilada.
- 50%: 500 ul del extracto etanólico al 100% con 500 ul de agua destilada.

3.6.4. Procedimiento de la fase analítica de la EHMO

3.6.4.1. Preparación del inóculo. A partir de colonias puras de los microorganismo *Streptococcus mutans* ATCC 25175 se tomó un tanto de cantidad de colonias y se diluyó en tubos de ensayo conteniendo 10 ml de suero fisiológico estéril (cloruro de sodio 0.9%) de tal manera que la soluciones resultantes tuvieron una turbidez correspondiente al tubo N°1 de la

escala de MacFarland (escala turbidimétrica que consta de una serie de tubos con turbidez creciente que permite hallar la concentración aproximada de una solución bacteriana) el cual corresponde a una concentración de 3×10^8 ufc/ml. - A partir de estas últimas soluciones se realizó diluciones de 1 en 3, para ello de estas soluciones preparadas se tomó 3 ml y se diluyeron a un volumen total de 9 ml con suero fisiológico en tubos con tapa rosca, todos los elementos utilizados deben ser estériles y también el espacio de trabajo. Las soluciones derivadas tuvieron concentraciones de 1×10^8 ufc/ml.

3.6.4.2. Inoculación de las placas. Se agregó 100 ul de cada inóculo bacteriano preparado (1×10^8 ufc/ml) a 13 placas con agar Mueller Hinton y con la ayuda de una espátula de Drigalsky se diseminaron los inóculos por todas las placas de tal modo que se obtenga un crecimiento homogéneo, para ello se deslizó el asa en la placa en forma paralela y bien compacta cubriendo toda la superficie de la misma. Luego se reiteró el procedimiento rotando la placa 60° en dos oportunidades más. En punto deben tener extremos cuidados en sembrar las placas de borde a borde, para evitar problemas en la realización de las lecturas. Se dejó secar 3 a 5 minutos antes de hacer los pocillos.

3.6.4.3. Formación de los pocillos. Se esterilizó el sacabocados con alcohol y se flameó en el mechero, posteriormente con excesivo cuidado se hizo los pocillos, se hizo tres por cada placa.

Los pocillos deben estar a más de 15 mm del borde de la placa y deben distribuirse de tal manera que no haya superposición de los halos de inhibición.

3.6.4.4. Sembrado de las muestras y controles. Se empleó 15 placas para las diluciones 3 concentraciones del extracto etanólico de moringa, 1 control positivo y un control negativo. En total 5 pocillos por placa. Cada dilución se sembró añadiendo 40uL en un pocillo por cada placa Petri. Como control negativo o muestra blanco se usó agua destilada. En cada placa se sembró 40uL un pocillo por cada placa Petri. Como control positivo se usó Gluconato de

clorhexidina al 0.12% (Perio Gard) proporcionado por el cliente. En cada placa se sembró 40uL un pocillo por cada placa Petri.

3.6.4.5. Incubación. Las 15 placas de las diluciones de la muestra y los controles se llevaron a una incubadora a 37°C durante 24, 48 y 72 horas.

Después de 24, 48 y 72 horas de incubación, cada placa fue inspeccionada. Las zonas de inhibición que resulta deben presentar uniformidad circulares en una capa homogénea de crecimiento bacteriano. Los diámetros de la zona de inhibición completa se valoración en milímetros pasando por el centro de cada pocillo. La medición se hizo por triplicado para cada pocillo. Luego los valores de las mediciones se promediaron y se redondearon para reportarlo como un número natural.

3.7. Análisis de datos

Se creó una base de datos en el programa Microsoft Excel para que luego fueran procesadas en el paquete estadístico SPSS V. 24.0. De acuerdo a la prueba de normalidad de los datos (Prueba de Shapiro Wilk), se observa que los valores de significancia son < 0.05 por lo tanto las muestras no proceden de una distribución normal, por lo que se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para el estudio.

3.8. Consideraciones éticas

Para la investigación se cumplió con la ética garantizando análisis transparentes, cumpliendo con la bioseguridad y las normas de la práctica del laboratorio para proporcionar resultados fehacientes evitando eventos adversos que pongan en riesgo la calidad de los resultados analizados del EHMO y su actividad con el *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en el laboratorio. Asimismo, se tuvo presente aspectos éticos respetando las referencias de autores que son mencionados según las normas APA y los requisitos que la universidad exige.

IV. RESULTADOS

Este trabajo de investigación fue realizado sobre las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, en el que se determinó la actividad antibacteriana del extracto de hojas de *Moringa oleifera* al 50%, 75% y 100%.

Tabla 1

Halos de inhibición del extracto de hojas de Moringa oleifera al 50%, 75% y 100% y la clorhexidina al 0,12% sobre las cepas de Streptococcus mutans ATCC 25175, a las 24 horas.

Halos	n	x	D.E.	Mín.	Máx.	Valor p	EHMO al 75%	EHMO al 100%	Clorhexidina al 0.12%
EHMO al 50%	15	11,13	0,915	10	13	<0,001*	0,002**	0,001**	<0,001**
EHMO al 75%	15	15,20	0,561	14	16			1,00**	<0,001**
EHMO al 100%	15	18,13	0,640	17	19				<0,001**
Clorhexidina al 0.12%	15	32,67	1,047	31	35				

Nota. En la tabla 1 se observa los resultados de la media y su desviación estándar de los halos de inhibición formado del extracto de hojas de moringa oleifeira (EHMO) en las distintas concentraciones al 50%, 75% y 100% frente a las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Los resultados en 24 horas demuestran que la concentración que tuvo mayor actividad antibacteriana con halo de inhibición, pertenece a la concentración de 100% con un halo de inhibición promedio de 18,13 mm, con una desviación estándar (DE) 0,640. Las concentraciones de 75% 15,20 mm con una DE. 0,561 y la concentración de 50% 11,13 mm con una DE 0,915. En tanto, que la Clorhexidina al 0,12 % fue más efectiva que todas las concentraciones de Extracto de hojas de *Moringa oleifeira* ($P < 0,05$), con halos de inhibición de 32,67 mm con DE 1,047. Por otro lado, Control negativo (-) con halo de inhibición de 6,00.

La prueba de comparaciones en pareja del EHMO al 75% y 100% son similares, ya que evidencian una significancia mayor a 0.05 (1.000). Es decir, presentan similitud en su actividad antibacteriana frente a las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 dentro de las 24 horas. Así mismo, se puede observar que existe diferencias significativas del EHMO en las diferentes concentraciones del 50%, 75% y 100% con Clorhexidina al 0.12%, evidenciando un p valor menor al 0.05. n: recuento; x: promedio; D.E.: desviación estándar.

*Prueba de Kruskall Wallis**Prueba post hoc

Tabla 2

Halos de inhibición del extracto de hojas de Moringa oleifera al 50%, 75% y 100% y la clorhexidina al 0,12% sobre las cepas de Streptococcus mutans ATCC 25175, a las 48 horas.

Halos	n	x	D.E.	Mín.	Máx.	Valor p	EHMO al 75%	EHMO al 100%	Clorhexidina al 0.12%
EHMO al 50%	15	6,00	0,000	6	6	<0,001*	0,057**	<0,001**	<0,001**
EHMO al 75%	15	10,00	1,000	9	12			0,211**	<0,001**
EHMO al 100%	15	16,13	0,990	14	18				0,057**
clorhexidina al 0.12% (+)	15	31,27	0,704	30	32				

Nota. En la tabla 2 se observa los resultados en 48 horas demuestran que la concentración que tuvo mayor actividad antibacteriana con halo de inhibición, pertenece a la concentración de 100% con un halo de inhibición promedio de 16,13 mm, con una desviación estándar DE 0,990. Las concentraciones de 75% 10,00 mm con una DE. 1,000 y la concentración de 50% y Control negativo (-) fue no significativa 6,00 mm. En tanto, que la Clorhexidina al 0,12 % fue más efectiva que todas las concentraciones de Extracto de hojas de Moringa Oleifeira (P < 0,05), con halos de inhibición de 31,27 mm con DE 0,704. La prueba de comparaciones en pareja del EHMO al 100% es similar a la *Clorhexidina* al 0.12%, ya que evidencian una significancia mayor a 0.05 (0.67). Además es similar entre el EHMO del 75 y 100%, como EHMO 50 y

75%. También se puede observar que existe diferencias significativas del EHMO al 50% y del 100% con la Clorhexidina al 0.12%, evidenciando un p valor menor al 0.05. n: recuento; x: promedio; D.E.: desviación estándar. *Prueba de Kruskall Wallis**Prueba post hoc

Tabla 3

Halos de inhibición del extracto de hojas de Moringa oleifera al 50%, 75% y 100% y la clorhexidina al 0,12% sobre las cepas de Streptococcus mutans ATCC 25175, a las 72 horas.

Halos	n	x	D.E.	Mín.	Máx.	Valor p	EHMO al 75%	EHMO al 100%	Clorhexidina al 0.12%
EHMO al 50%	15	6,00	0,000	6	6	<0,001*	1,00	0,001**	<0,001**
EHMO al 75%	15	6,00	0,000	6	6			0,001**	<0,001**
EHMO al 100%	15	11,20	0,775	10	12				0,063
Clorhexidina al 0.12%	15	28,47	1,246	27	30				

Nota. En la tabla 3 se muestran los resultados en 72 horas demuestran que la concentración que tuvo mayor actividad antibacteriana con halo de inhibición, pertenece a la concentración de 100% con un halo de inhibición promedio de 11,20 mm, con una desviación estándar (DE) 0,775. Las concentraciones de 75%, 50% y Control negativo (-) fue no significativa 6,00 mm. En tanto, que la Clorhexidina al 0,12 % fue más efectiva que todas las concentraciones de Extracto de hojas de Moringa oleifera ($P < 0,05$), con halos de inhibición de 28,47 mm con DE 1,246. La prueba de comparaciones en pareja del EHMO al 100% es similar a la Clorhexidina al 0.12%, ya que evidencian una significancia mayor a 0.05 (0.63). Además, es similar entre el EHMO del 50 y 75%. También se puede observar que existe diferencias significativas del EHMO al 50% y del 75% con la Clorhexidina al 0.12%, evidenciando un p valor menor al 0.05 respectivamente. n: recuento; x: promedio; D.E.: desviación estándar.

*Prueba de Kruskall Wallis **Prueba post hoc

Tabla 4

Halos de inhibición del extracto de hojas de Moringa oleifera al 50%, 75% y 100% y la clorhexidina al 0,12% sobre las cepas de Streptococcus mutans ATCC 25175, a las 24, 48 y 72 horas

	24h		48h		72h		Valor p*
	x	D.E	x	D.E	x	D.E	
EHMO 50%	11.13	0.92	6.00	0.00	6.00	0.00	<0,001
EHMO 75%	15.20	0.56	10.00	1.00	6.00	0.00	<0,001
EHMO 100%	18.13	0.64	16.07	1.10	11.20	0.77	<0,001
Clorhexidina 0,12%	32.67	1.05	31.27	0.70	28.47	1.25	<0,001

Nota. Al realizar la comparación de los EHMO en los distintos tiempos de evaluación. Según la prueba Friedman se encontró que existe diferencia significativa en todas las concentraciones de los EHMO y la clorhexidina a las 24, 48 y 72 horas ($p < 0,001$). x: promedio; D.E.: desviación estándar. *Prueba de Friedman

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Desde siempre los seres humanos han utilizado y experimentado con plantas y sus derivados para solucionar problemas de salud. Es así que existen varios estudios que han demostrado que la planta *Moringa oleifera* están siendo utilizadas por sus beneficios, eficacia antiinflamatoria, antibacteriana y anticancerígena (Jwa, 2019). Inclusive son más baratos y menos tóxicos que los medicamentos comerciales. Por tanto, en el presente estudio los hallazgos resultantes de la investigación lo basamos en la hipótesis general formulado, con la finalidad de conocer si el extracto de hojas de *Moringa oleifera* al 50%, 75% y 100% tiene actividad antibacteriana comparado el Clorhexidina al 0,12 % sobre las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Los resultados de nuestro estudio se obtuvieron mediante método de difusión en placa o de Kirby Bauer, se diluyo con alcohol puro de 50, 75 y 100%, mientras que la siembra de *Streptococcus Mutans* fue en Agar Mueller Hinton.

Como resultado estadístico de la prueba de Kruskal Wallis se obtuvo un valor de Significancia de 0,000 menor al 0,05 y una confiabilidad del 95%, que indica que existe diferencia estadística entre las medias de las muestras de las diferentes concentraciones del EHMO 50% ,75% y 100% en comparación con Clorhexidina al 0.12%, para saber la diferencia se realizó las comparaciones por parejas. Resultando que el EHMO al 100% es similar al *Clorhexidina* al 0.12%, ya que evidencian una significancia mayor a 0.05 en 48 y 72 horas. Incidiendo en todos los casos que son mayores los valores de la Clorhexidina 0,12%.

Además, en la comparación de halos de inhibición en distintas concentraciones del extracto de hojas de *Moringa oleifera* frente al Clorhexidina al 0.12%, se encontró que la concentración del 100% presenta mayor actividad antibacteriana frente a las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, tanto en 24, 48 y 72 horas con halos de (18.13mm)

(16.13mm) y (11.2mm) respectivamente, mientras que en concentraciones de 75% se observa actividad antibacteriana solo en 24 horas (15.2 mm) y 48 horas (10.00 mm). En tanto, que las concentraciones del 50% solo presentan actividad antimicrobiana durante las 24 horas con halos de inhibición de 11.13 mm, siendo esta actividad nula (6.00 mm) en las 48 h y 72 horas.

Se puede inferir, que aunque el EHMO en sus distintas concentraciones presenta actividad antibacteriana, la concentración del 100% es similar en comparación con la clorhexidina 0.12%, cabe recalcar que esta última en el análisis se encuentran muy por encima de las medias de halos de inhibición del extracto de hojas de *Moringa oleifera* en sus distintas concentraciones. Siendo sus valores media de inhibición de 32.67mm en 24 horas, 31.27 mm en 48 horas y 28.47 mm en 72 horas respectivamente.

Según los antecedentes revisados, nuestros resultados concuerdan con Elgamily et al. (2016) En Egipto en su investigación Evaluación Microbiológica de Extractos de *Moringa Oleifera* y su incorporación en nuevos remedios dentales contra algunos patógenos orales, sus resultados de halos de inhibición fue de 12.5 mm, frente *Streptococcus mutans* como para el crecimiento *Staphylococcus aureus*, Concluye que el dentífrico preparado a base de la concentración extracto etanólico de hojas de moringa son potentes antifúngicos y antimicrobianos, de la misma forma. El cual concuerda con nuestro estudio que presentando halo de inhibición superiores, es decir, una media de 18.13 mm de diámetro en 24 horas y 16.13 en 48 horas, en el EHMO al 100 % presentando potencial antimicrobiano, resultando ser sumamente sensible el *Streptococcus mutans*.

Igualmente, Jwa (2019) en Corea, en su estudio Eficacia de los extractos de hojas de *Moringa oleifera* contra el cariogénico, obtuvo hallazgos similares donde demostraron que los extractos de la *Moringa oleifera* presentan actividad antimicrobiana frente al *Streptococcus mutans* con halos superiores a 8 mm

También, nuestros estudios coinciden con Priya et al. (2011) dio como resultado zonas de inhibición de benceno, metanol de EHMO fue eficaz contra todos los organismos de prueba, con halos que oscilan entre 8 y 22 mm. Igualmente tuvieron igual efectividad con extracto de la corteza con halos entre 10 y 20 mm. Además, la zona de inhibición del éter, petróleo, benceno, metanol y extractos acuosos de semillas de la planta tuvo el mismo efecto oscilando halos de 10 a 22 mm. Mientras que la pulpa de Moringa oleifera en extractos de cloroformo y acetona resultaron similares con zonas de inhibición de 7 a 21 mm. Concluyeron que los extractos de Moringa oleifera es recomendando para uso como agente antimicrobiano en nuevos medicamentos para tratamientos de enfermedades infecciosas causadas por patógenos mencionados.

Igualmente coinciden con Salcedo (2017) uso disolvente etanol al 70% (60 ml) y agua destilada al 30% (140 ml), el medio de cultivo fue Agar Mueller Hinton suplementado con sangre de cordero al 5% y se midieron los halos en 24 y 48 horas, mostrando efecto inhibitorio en 75 y 100% (9.73 mm) (12.53 mm) y la clorhexidina al 0.12% (18.13 mm). Demostrando efectividad frente al *Streptococcus mutans*. Si bien es cierto que nuestro estudio concuerda con la efectividad del EHMO, nuestros resultados fueron altamente superiores en medidas de halos de inhibición de (18.13mm) (16.13mm) y (11.2mm) en 24h, 48h y 72 horas con EEHMO AL 100%, mientras que al 75% en 24h las medidas de los halos fueron de 15.2 mm y 10 mm en 48 horas y con EHMO al 50% la actividad antimicrobiana fue 11.13mm en 24 horas. Igualmente con la *clorhexidina* al 0.12% nuestros resultados tuvieron halos de 32.67mm en 24 horas, 31.27 mm en 48 horas.

De la misma manera, Chero (2018) utilizo como disolventes de etanol al 70 %, para cultivo empleo el agar cerebro corazón y el método de difusión fue en pozos. Se obtuvo halos promedios de inhibición de 17,96 y 15,27 mm en concentraciones de 76 mg/ml y 38mg/ml; es decir tienen efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* ATCC 35668. Este estudio

concuenda con nuestra investigación demostrando que sí existe efecto antibacteriano del EHMO.

Mientras tanto nuestro estudio difiere de Arévalo (2017) en Perú en su estudio Efecto antibacteriano y citotóxico de dos extractos metanólicos a base de *Moringa oleifera* (moringa) y *Azadirachta indica* (neem) sobre cepas de *Enterococcus faecalis* Obtuvo halos promedios de inhibición de 35.5mm y 44.83mm, en tanto fueron menores en la clorhexidina (19.16 mm y 27.0 mm); es decir los extractos de moringa oleifeira tienen efecto antibacteriano frente al patógeno con halos superiores a nuestro estudio y muy por el contrario las medidas con la clorhexidina son inferiores.

Se puede inferir de los antecedentes antes mencionados, que los medios de cultivos aplicados, los disolventes usados en el análisis los EHMO y otras partes de la planta en mención, podrían influenciar en los resultados mencionados porque en general los estudios aplicaron estos factores de manera diferente, variando desde disolventes y concentraciones. Obteniendo resultados con halos de inhibición que varía uno de otros, aunque todas fueron eficaces frente a bacteria en estudio la excepción fue de Arévalo (2017) con los halos de inhibición superiores (35mm – 44.83 mm) en 24 y 48 horas superando al de la *clorhexidina* (19.6 mm). En comparación con nuestro estudio con halos de (11.20 a 18.13 mm) para 24, 48 y 72 horas, siendo superior la clorhexidina (28.47 - 32.67 mm), el cual puede variar por la concentración de la clorhexidina.

Al respecto, La clorhexidina es antiséptico seguro y eficaz muy usado en odontología y sea demostrado su alta actividad antimicrobiana frente al *Streptococcus mutans*, existe mucha literatura al respecto sin embargo concentraciones de 0.12% a más tiene efectos secundarios como la decoloración marrón de los dientes, erosión de la mucosa oral y sabor amargo Por otro lado, el EHMO considerada por sus propiedades en medicina tradicional, tiene compuestos

glucosinolatos e isotiocianatos, ricos en una serie de vitaminas y minerales, así como otros fitoquímicos comúnmente reconocidos como Carotenoides (incluyendo β -caroteno o provitamina A) (Fahey, 2005). Que en los últimos años dan cuenta de la efectividad antibacteriana, antiespasmódica, cicatrizante, hipotensor, antiulceroso, antiinflamatorio, analgésico e hipoglucemiante. En odontología se usa para alivio del dolor de dientes y caries dental en fitoterapia. Desafortunadamente muchos de estos informes de eficacia en seres humanos no están soportados por ensayos clínicos aleatorios controlados, ni han sido publicados en revistas indizadas (Fahey, 2005; Ganatra et al. 2012).

Se puede concluir que existen pruebas fehacientes que el EHMO y sus otras partes de Moringa Oleífera son eficientes frente al *Streptococcus mutans* y que el estudio contribuirá en la medicina tradicional y generar nuevas formulaciones dentales más eficaces y de bajo riesgo para la salud.

VI. CONCLUSIONES

- A las 24 horas, el extracto de hojas de Moringa oleífera en todas las concentraciones tiene actividad antibacteriana frente a las cepas de Streptococcus mutans ATCC 25175, siendo la clorhexidina al 0,12% y el EHMO al 100% los que generaba mayor actividad antibacteriana.
- A las 48, el extracto de hojas de Moringa oleífera de 100%, 75% y 50% tienen actividad antibacteriana frente a las cepas de Streptococcus mutans ATCC 25175, siendo la clorhexidina al 0,12% y el EHMO al 100% los que generaba mayor actividad antibacteriana.
- A las 72, el extracto de hojas de Moringa oleífera de 100% tiene actividad antibacteriana frente a las cepas de Streptococcus mutans ATCC 25175, siendo la clorhexidina al 0,12% y el EHMO al 100% los que generaba mayor actividad antibacteriana.
- La actividad antifúngica del extracto de hojas de Moringa oleífera disminuye con el tiempo en sus diferentes concentraciones.

VII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda usar extracto de hojas de Moringa Oleífera en concentraciones mayores a 50% debido a su efectividad antimicrobiana frente al Streptococcus Mutans ATCC 25175.
- Se debe realizar estudios con elaboración de dentríficos a base de Moringa Oleífera para estudios de su efectividad como prevención de caries dental o enfermedades periodontal o bucal.
- Se debe realizar estudios con otras partes del árbol Moringa Oleifera para medir su efectividad y concentración frente al Streptococcus Mutans.

VIII. REFERENCIAS

- Agbogidi, O. y Ilondu, E. (2012). Moringa oleifera Lam: its potentials as a food security and rural medicinal item. *Journal of Bio Innovation*, 1(6), 156-167. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20133103831>
- Aguilar, E., Aguilar, K., Garay, B., Mamani, V. y Quispe, M. (2018). Actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* de aceites esenciales de cinco plantas alto andinas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 35(1), 161-163. <https://dx.doi.org/10.17843/rpmpesp.2018.351.3610>
- Arévalo, L. (2017). *Efecto antibacteriano y citotóxico de dos extractos metanólicos a base de Moringa oleifera (moringa) y Azadirachta indica (neem) sobre cepas de Enterococcus faecalis*. [Tesis de pregrado, Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas]. <https://repositorioacademico.upc.edu.pe/bitstream/handle/10757/621020/Pdf%20original.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
- Arias, C. (2014). *Estudio de las posibles zonas de introducción de la Moringa Oleifera Lam. En la península Ibérica, islas Baleares e islas Canarias*. Universidad Politécnica de Madrid. [Tesis de pregrado, Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas]. https://oa.upm.es/23094/1/PFCARIAS_SABIN.pdf
- Asare, G. A., Gyan, B., Bugyei, K., Adjei, S., Mahama, R., Addo, P., Otu-Nyarko, L., Wiredu, E. K. y Nyarko, A. (2012). Toxicity potentials of the nutraceutical Moringa oleifera at supra-supplementation levels. *Journal of ethnopharmacology*, 139(1), 265–272. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.11.009>
- Awaad, A., El-meligy, R., Qenawy, S., Atta, A. y Soliman, G. (2011). Anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic effects of some desert plants. *Journal of Saudi Chemical Society*, 15(4), 367-373.

<https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.elsevier-31b8ae14-da30-3220-8129-d659feb99091>

- Brilhante, R. S. N., Sales, J. A., de Souza Sampaio, C. M., Barbosa, F. G., de Araújo Neto Paiva, M., de Melo Guedes, G. M., de Alencar, L. P., de Ponte, Y. B., de Jesus Pinheiro Gomes Bandeira, T., Moreira, J. L. B., de Souza Collares Maia Castelo-Branco, D., de Aquino Pereira-Neto, W., de Aguiar Cordeiro, R., Sidrim, J. J. C. y Rocha, M. F. G. (2015). *Vibrio* spp. from *Macrobrachium amazonicum* prawn farming are inhibited by *Moringa oleifera* extracts. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 8(11), 919–922. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2015.10.012>
- Chero, V. (2018). *Comparación del efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso e hidroetanólico de hojas de moringa oleifera sobre streptococcus mutans ATCC 35668*. [Tesis de pregrado, Universidad Señor de Sipán]. <https://hdl.handle.net/20.500.12802/5700>
- Cibej, F. (2019). *Caracterización química proximal de la torta de Moringa oleifera sobre su composición nutricional, sensorial y toxicológico*. [Tesis de maestría, Universidad Nacional Agraria La Molina]. <https://hdl.handle.net/20.500.12996/4059>
- Da Costa, L. F. N. P., Amaral, C. D. S. F., Barbirato, D. D. S., Leão, A. T. T. y Fogacci, M. F. (2017). Chlorhexidine mouthwash as an adjunct to mechanical therapy in chronic periodontitis: A meta-analysis. *Journal of the American Dental Association (1939)*, 148(5), 308–318. <https://doi.org/10.1016/j.adaj.2017.01.021>
- Das, N., Sikder, K., Ghosh, S., Fromenty, B. y Dey, S. (2012). *Moringa oleifera* Lam. leaf extract prevents early liver injury and restores antioxidant status in mice fed with high-fat diet. *Indian journal of experimental biology*, 50(6), 404–412.

- Dhakad, A. K., Ikram, M., Sharma, S., Khan, S., Pandey, V. V. y Singh, A. (2019). Biological, nutritional, and therapeutic significance of *Moringa oleifera* Lam. *Phytotherapy research : PTR*, 33(11), 2870–2903. <https://doi.org/10.1002/ptr.6475>
- Elgamily, H., Moussa, A., Elboraey, A., El-Sayed, H., Al-Moghazy, M. y Abdalla, A. (2016). Microbiological Assessment of *Moringa Oleifera* Extracts and Its Incorporation in Novel Dental Remedies against Some Oral Pathogens. *Open access Macedonian journal of medical sciences*, 4(4), 585–590. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2016.132>
- Fahey, J. W. (2005). *Moringa oleifera*: A Review of the Medical Evidence for Its Nutritional, Therapeutic, and Prophylactic Properties: Part 1. *Trees for Life Journal*, 1(5). https://www.researchgate.net/publication/228346351_Moringa_oleifera_A_Review_of_the_Medical_Evidence_for_Its_Nutritional_Therapeutic_and_Prophylactic_Properties_Part_1
- Gamboa, F. (2014). Identificación y caracterización microbiológica, fenotípica y genotípica del *Streptococcus mutans*: experiencias de investigación. *Universitas odontológica*, 33(71), 65-73. <https://www.redalyc.org/pdf/2312/231242326009.pdf>
- Ganatra, T., Joshi, U., Bhaladia, P., Desai, T. y Tergar, P. (2012). A panoramic view on Pharmacognostic Pharmacological nutritional therapeutic and prophylactic values of *Moringa oleifera* Lam. *International Research Journal of Pharmacy*, 3(6), 1-7. https://irjponline.com/admin/php/uploads/1154_pdf.pdf
- González, M., Gonzales, G. y Andrade, A. (2019). Fimbrias bacterianas, estructuras versátiles. *Revista de divulgación científica y tecnológica UANL*, 93(1) <https://cienciauanl.uanl.mx/?p=8562>
- Gupta, N. y Bhat, M. (2011). Comparative evaluation of 0.2 percent chlorhexidine and magnetized water as a mouth rinse on *Streptococcus mutans* in children. *International*

- Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 4(3), 190–194. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-1108>
- Guzmán, C. (7 de julio de 2010). Minag y Sembrando impulsan cultivo de moringa para combatir desnutrición infantil en zonas pobres. *Andina*. <https://andina.pe/agencia/noticia-minag-y-sembrando-impulsan-cultivo-moringa-para-combatir-desnutricion-infantil-zonas-pobres-321445.aspx>
- Jwa S. K. (2019). Efficacy of Moringa oleifera Leaf Extracts against Cariogenic Biofilm. *Preventive nutrition and food science*, 24(3), 308–312. <https://doi.org/10.3746/pnf.2019.24.3.308>
- Lakade, L., Shah, P. y Shirol, D. (2014). Comparison of antimicrobial efficacy of chlorhexidine and combination mouth rinse in reducing the mutans streptococcus count in plaque. *Journal of the Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, 32(2), 91-6. <https://www.jisppd.com/article.asp?issn=0970-4388;year=2014;volume=32;issue=2;spage=91;epage=96;aulast=>
- Lamou, B., Taiwe, G., Hamadou, A., Houlay, J., Atour, M. y Vernyuy, P. (2016). Antioxidant and Antifatigue Properties of the Aqueous Extract of Moringa oleifera in Rats Subjected to Forced Swimming Endurance Test. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. <https://doi.org/10.1155/2016/3517824>
- Lee, S. y Kim, Y. (2014). A comparative study of the effect of probiotics on cariogenic biofilm model for preventing dental caries. *Archives of Microbiology*, 196(8), 601-609. <https://doi.org/10.1007/s00203-014-0998-7>
- Liebaña, J. (2002). *Microbiología Oral*. Mc Graw-Hill Interamericana.
- Marsh, P. (1991). Sugar, fluoride, pH and microbial homeostasis in dental plaque. *Actas de la Sociedad Dental Finlandesa*, 87(4), 515-525. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1775479/>

- Marsh, P. (1994). Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Advances in Dental Research*, 8(2), 263-271. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7865085/>
- Minaiyan, M., Asghari, G., Taheri, D., Saeidi, M. y Nasr-Esfahani, S. (2014). Anti-inflammatory effect of *Moringa oleifera* Lam. seeds on acetic acid-induced acute colitis in rats. *Avicenna journal of phytomedicine*, 4(2), 127–136.
- Moravec, C., Bradford, K. y Laca, E. (2008). Water relations of drumstick tree seed (*Moringa oleifera*): imbibition, desiccation, and sorption isotherms. *Seed Science. & Technology*, 36(1), 311-324.
- Nakano, K., Nomura, R., Nakagawa, I., Hamada, S. y Ooshima, T. (2005). Role of glucose side chains with serotype-specific polysaccharide in the cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Caries Research*, 39(4), 262-268.
- Ojeda, J., Oviedo, E. y Salas, L. (2013). *Streptococcus mutans* y caries dental. *Revista CES Odontología*, 26(1), 44-56. <https://revistas.ces.edu.co/index.php/odontologia/article/view/2684/1859>
- Padilla, C., Fraga., N. y Suárez, M. (2012). Efecto del tiempo de remojo de las semillas de moringa (*Moringa oleífera*) en el comportamiento de la germinación y en indicadores del crecimiento de la planta. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 46(4), 419-421 <https://www.redalyc.org/pdf/1930/193027579013.pdf>
- Paikra, B. K., Dhongade, H. K. J. y Gidwani, B. (2017). Phytochemistry and Pharmacology of *Moringa oleifera* Lam. *Journal of pharmacopuncture*, 20(3), 194–200. <https://doi.org/10.3831/KPI.2017.20.022>
- Pérez, A., Sánchez, T., Armengol, N., y F. Reyes. (2010). Características y potencialidades de *Moringa oleifera*, Lamark. Una alternativa para la alimentación animal. *Pastos y*

Forrajes, 33(4). 1-16. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942010000400001

- Priya, V., Abiramasundari, P., Gayathri Devi, S. y Jeyanthi, G.P. (2011). Antibacterial activity of the leaves, bark, seed and flesh of *Moringa Oleifera*. *International Journal of Pharmaceutical sciences and research*, 2(8), 2045-2049. <https://ijpsr.com/bft-article/antibacterial-activity-of-the-leaves-bark-seed-and-flesh-of-moringa-oleifera/>
- Saini, R. K., Sivanesan, I. y Keum, Y. S. (2016). Phytochemicals of *Moringa oleifera*: a review of their nutritional, therapeutic and industrial significance. *3 Biotech*, 6(2), 203. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0526-3>
- Salcedo, M. (2017). *Efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de Moringa (Moringa oleifera) en concentraciones de 25 %, 50%, 75% y 100% sobre Streptococcus mutans. Estudio in vitro* [Tesis de pregrado, Universidad Central del Ecuador]. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/13336>
- Scheibler, E., Garcia, M., Medina da Silva, R., Figueiredo, M., Gonçalves, F. y Cherubini, K. (2017). Use of nystatin and chlorhexidine in oral medicine: properties, indications and pitfalls with focus on geriatric patients. *Gerodontology*, 34(3), 291–298. <https://doi.org/10.1111/ger.12278>
- Sheikh, A., Yeasmin, F., Agarwal, S., Rahman, M., Islam, K., Hossain, E., Hossain, S., Karim, M. R., Nikkon, F., Saud, Z. A. y Hossain, K. (2014). Protective effects of *Moringa oleifera* Lam. leaves against arsenic-induced toxicity in mice. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 4(1), S353–S358. <https://doi.org/10.12980/APJTB.4.201414B44>
- Sulistyorini, R., Sarjadi, A. y Djamiatun, K. (2015). Effect of Ethanol Extract of *Moringa oleifera* Leaves on inulin Expression and Insulinitis in Diabetes Mellitus Rats. *Majalah Kedokteran Bandung*, 47(2), 69-76. <https://journal.fk.unpad.ac.id/index.php/mkb/article/view/456>

- Tuyet, N., Thuy Hang, L. (2021). Effect of drying temperature on physicochemical properties of *Moringa oleifera* leaf. *Livestock Research for Rural Development*, 33(11).
<https://lrrd.cipav.org.co/lrrd33/11/33129ntgia.html>
- Varoni, E., Tarce, M., Lodi, G. y Carrassi, A. (2012). Chlorhexidine (CHX) in dentistry: state of the art. *Minerva stomatologica*, 61(9), 399–419.
- Villar, C., Pannuti, C. y Nery, D. Morillo, C., Carmona, M. y Romito, G. (2016). Effectiveness of intraoral chlorhexidine protocols in the prevention of ventilator-associated pneumonia: Meta-analysis and systematic review. *Respiratory Care*, 61(9), 1245-1259.
<https://doi.org/10.4187/respcare.04610>

IX. ANEXOS

Anexo A: Matriz de Consistencia

OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	INSTRUMENTO	DISEÑO	ANÁLISIS ESTADÍSTICO
<p>Objetivo General: Evaluar el efecto antibacteriano del extracto de hojas de <i>Moringa oleifera</i> comparado con clorhexidina al 0,12% sobre las cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p>	<p>Hipótesis General Es probable que el extracto de hojas de <i>Moringa oleifera</i> tenga una mayor efecto antibacteriano que la clorhexidina al 0,12 % sobre las cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p>	<p>Variables</p> <p>El extracto de hojas de <i>Moringa oleifera</i></p> <p>Clorhexidina al 0,12%</p> <p>Efecto antibacteriano: halos de inhibición del extracto de hojas de <i>Moringa oleifera</i> en un cultivo con <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p>	<p>-Ficha de recolección de datos</p>	<p>Tipo de estudio: Experimental, longitudinal, comparativo, prospectivo.</p>	<p>Se creará una base de datos en el programa Microsoft Excel para que luego sean procesadas en el paquete estadístico SPSS V. 24.0.</p> <p>Dependiendo de la normalidad de los datos (Prueba de Shapiro Wilk), se utilizará la prueba de ANOVA si tuviera distribución normal, y en el caso de que no existiera distribución normal se utilizará la Kruskal-Wallis. Se considerará un nivel de significancia <0,05.</p> <p>Los resultados serán presentados en tablas y figuras.</p>

Anexo B: Ficha de Recolección de Datos N° 01

EFFECTO ANTIBACTERIANO DE EXTRACTO DE HOJAS DE MORINGA OLEIFERA SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS				
N	LONGITUD DEL HALO DE INHIBICIÓN (mm)			
	Extracto de hojas de <i>Moringa oleifera</i> .al 100%	Extracto de hojas de <i>Moringa oleifera</i> al 75%	Extracto de hojas de <i>Moringa oleifera</i> al 50%	Clorhexidina al 0,12 %
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				

Anexo C: Extracto etanólico de hojas de Moringa Olefeira

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA - CCA

	<p>TÉCNICA ANALÍTICA</p>
<p>EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE MORINGA</p>	

1. Equipos:

Estufa Memmert UN55 B215.2490
Balanza Analítica AND HR 250Z

2. Procedimiento:

- Lavar las hojas y secar a temperatura ambiente.



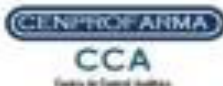
Fig 1. Hojas lavadas.

- Colocar las hojas en la estufa a temperatura de 40°C y verificar hasta que se encuentren completamente secas.



Fig 2. Hojas en la estufa.

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA - CCA



TÉCNICA ANALÍTICA

EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE MORINGA

- Luego las hojas secas se trituran hasta que estén completamente pulverizadas.



Fig 3. Molienda de las hojas

- Posteriormente pesar 200g de las hojas pulverizadas y macerar en un frasco ámbar en la oscuridad por un periodo de 2 semanas con 1000 mL de etanol a 96°.



Fig 4. Hojas pulverizadas en beaker con etanol.

- Agitar el beaker mecánicamente cada 6 horas.

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA - CCA

	<p>TÉCNICA ANALÍTICA</p>
<p>EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE MORINGA</p>	

- Luego se filtra el macerado con papel filtro.



Fig 5. Filtrado del extracto

- Se procede a concentrar el extracto en la estufa a 40°C reduciéndose hasta la tercera parte del volumen inicial.



Fig 6. Extracto en la estufa

Anexo D: Halos de inhibición

