

**UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZAN**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**  
**CARRERA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**



**“EFICACIA ANTIBACTERIANA DE LA MORINGA OLEÍFERA  
SOBRE EL ENTEROCOCCUS FAECALIS ATCC29212 (ESTUDIO  
IN VITRO), HUÁNUCO - 2022”**

**LINEA DE INVESTIGACIÓN**  
**Ciencias Básicas y Sostenibilidad**

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

**TESISTAS:**

**PRÍNCIPE AYALA WENDY LIZBETH**  
**SOTO ROSALES YENNY ELENA**

**ASESOR:**

**MG. CD. GONZALES SOTO, CESAR LINCOLN**

**HUÁNUCO – PERÚ**

**2023**

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios, por sus beneplácitos cuidados.

A mis padres porque gracias a ellos es posible perseguir el sueño de llegar a ser profesional.

A mi asesor, docentes y todo personal que hizo posible la culminación de este proyecto con sus consejos y guía.

SOTO ROSALES, Yenny Elena

A Dios, por guiarme en cada etapa y decisión.

A mis padres por ser mi fortaleza, apoyo y motivación no solo en mi formación

universitaria sino durante todo mi vivir.

A mi persona por un logro más en este camino profesional.

PRÍNCIPE AYALA, Wendy Lizbeth

## **AGRADECIMIENTO**

A DIOS, el ser supremo en el cual creemos y confiamos, por sus bendiciones eternas para con nosotras.

A Papá y mamá por su sustento emocional y económico en el recorrido universitario ya que sin ellos nada de esto sería posible.

A nuestro asesor universitario el Mg. Gonzales Soto, Cesar Lincoln por su apoyo y guía teórico en el desarrollo de este proyecto.

A nuestro asesor externo, el Mg. Fernández Tarazona, Juan Augusto por sus conocimientos y experiencias brindadas que fueron fundamentales al iniciar y desarrollar esta tesis.

Al Dr. Goicochea Vargas, José y al biólogo Mg. Salvatierra Alor, Max encargados del laboratorio de Biotecnología molecular de nuestra querida casa UNHEVAL, por su apoyo y disposición en el proceso de caracterización de nuestra planta en estudio.

Al biólogo Mg. Juárez Vilcapuma, Otoniel de Scientific Quality S. A. C. ubicado en la ciudad de Lima, por su apoyo y colaboración en la ejecución de este proyecto de tesis.

A nuestros docentes y jurados evaluadores; al Mg. Ballarte Baylón, Antonio Alberto; al Mg. Chávez Leandro, Miguel Nino; al Mg. Cárdenas Criales, Jesús Omar y al Mg. Azañedo Ramírez, Víctor Abraham, por la orientación precisa. Del mismo modo a todos nuestros maestros universitarios de la facultad de odontología de UNHEVAL que pusieron su dedicación en formarnos como profesionales que aman la carrera con la esencia del servicio al prójimo, gracias.

## RESUMEN

**Objetivo:** Determinar la actividad antibacteriana de la pasta de Moringa Oleífera sobre el *Enterococcus Faecalis* y comparar el efecto antibacteriano entre la pasta de Moringa oleifera al 50% y 100% y el Hidróxido de calcio al 99% sobre el *Enterococcus Faecalis* a las 24, 48 y 72 horas. **Metodología:** La investigación corresponde al nivel explicativo, del tipo; prospectivo, de acuerdo al tiempo de ocurrencia de los hechos y registro de la información; longitudinal, de acuerdo a la secuencia y periodo del estudio; cuasi experimental, de acuerdo al análisis y alcance de los resultados y cuantitativo, de acuerdo a la naturaleza de sus datos. Se utilizaron hojas micropulverizadas de Moringa oleífera, donde la muestra fueron estudiada en pocillos para antibiograma en 20 cajas de Petri cultivadas con *Enterococcus faecalis* en medio de cultivo microbiológico Agar Müller-Hinton. **Resultados:** Se comprobó el efecto inhibitorio de las pastas de prueba de Moringa Oleífera sobre el *Enterococcus faecalis* ATCC®29212. En el efecto antibacteriano de Hidróxido de calcio al 99% en 24 horas, 48 horas y 72 horas In Vitro sobre el *Enterococcus faecalis* se pudo observar, los promedios al 100% a las 24 (5,59 mm), 48 (5,53 mm), y 72 horas (5,43 mm), son diferentes de cero, por lo cual, se comprueba el efecto inhibitorio de la pasta de Hidróxido de calcio al 99% frente a *Enterococcus faecalis*. La eficacia antibacteriana de la Moringa oleífera al 100% en 24 horas, 48 horas y en 72 horas In Vitro sobre el *Enterococcus faecalis* se pudo observar, los promedios al 100% a las 24 (12,45 mm), 48 (12,33 mm), y 72 horas (12,26 mm), son diferentes de cero, por lo cual, se comprueba el efecto inhibitorio de pasta de Moringa oleifera al 100% frente *Enterococcus faecalis*. En el efecto antibacteriano de la Moringa oleifera al 50% en 24 horas, 48 horas y 72 horas In Vitro sobre el *Enterococcus faecalis* se pudo distinguir que, los promedios de la pasta de Moringa oleifera al 50% a las 24 (10,68 mm), 48 (10,51 mm), y 72 horas (10,46 mm), son diferentes de cero. Por lo cual, se comprueba el efecto inhibitorio de la pasta de Moringa oleifera al 50% frente a *Enterococcus faecalis*. **Conclusión:** La propiedad antibacteriana de la Moringa oleífera responde como existente frente a la cepa ATCC®29212 de *Enterococcus faecalis*, resultando eficaz con un alto grado de inhibición en al

menos una de sus concentraciones, la cual es al 100% y en base a los resultados estadísticos descriptivos y el análisis inferencial realizado en este estudio, se puede concluir que la pasta de moringa oleífera al 100% presenta efecto antibacteriano significativo contra *Enterococcus faecalis* en comparación con la pasta de Hidróxido de calcio al 99%. Además, el análisis de la varianza (Anova) con el método Post Hoc de Tukey indicó que hay una diferencia estadísticamente expresiva en efectos de las pastas de prueba ( $p>0.01$ ).

**Palabras claves:** Enterococcus faecalis, Moringa oleífera, Müller Hilton.

## SUMMARY

**Aim:** To determine the antibacterial activity of Moringa Oleifera paste on Enterococcus Faecalis and compare the antibacterial effect between Moringa oleifera paste at 50% and 100% and Calcium Hydroxide at 99% on Enterococcus Faecalis at 24, 48 and 72 hours. **Methodology:** The investigation corresponds to the explanatory level, of the type; prospective, according to the time of occurrence of the events and registration of the information; longitudinal, according to the sequence and period of the study; quasi-experimental, according to analysis and scope of results and quantitative, according to the nature of your data. Micropulverized leaves of Moringa oleifera were used, where the sample was studied in wells for antibiogram in 20 Petri box cultivated with Enterococcus faecalis in a microbiological culture medium Müller-Hinton Agar. **Results:** The inhibitory effect of the Moringa Oleifera test pastes on Enterococcus faecalis ATCC®29212 was verified. On the antibacterial effect of 99% calcium hydroxide in 24 hours, 48 hours and 72 hours In Vitro on Enterococcus faecalis it was possible to observe, the averages at 100% at 24 (5.59 mm), 48 (5.53 mm), and 72 hours (5.43 mm ), are different from zero, therefore, the inhibitory effect of 100% calcium hydroxide paste against Enterococcus faecalis is verified. The antibacterial efficacy of Moringa oleifera 100% in 24 hours, 48 hours and in 72 hours In Vitro on Enterococcus faecalis it was possible to observe, the averages at 100% at 24 (12.45 mm), 48 (12.33 mm), and 72 hours (12.26 mm ), are different from zero, therefore, the inhibitory effect of 100% Moringa oleifera paste against Enterococcus faecalis. On the antibacterial effect of Moringa oleifera at 50% in 24 hours, 48 hours and 72 hours In Vitro on Enterococcus faecalis could be distinguished that, Moringa paste averages oleifera at 50% at 24 (10.68 mm), 48 (10.51 mm), and 72 (10.46 mm) hours, are non-zero. Therefore, the inhibitory effect of Moringa oleifera paste at 50% against Enterococcus faecalis is verified. **Conclusion:** The antibacterial property of Moringa oleifera responds as it exists against the ATCC®29212 strain of Enterococcus faecalis, being effective with a high degree of inhibition in at least one of its concentrations, which is 100% and based on statistical results. Descriptive and inferential analysis carried out in this

study, it can be concluded that. 100% *Moringa oleifera* paste has a significant antibacterial effect against *Enterococcus faecalis* compared to 99% calcium hydroxide paste. Besides, the analysis of variance (Anova) with Tukey's Post Hoc method indicated that there is a statistically significant difference expressive in effects of test pastes ( $p>0.01$ ).

**Keywords:** *Enterococcus faecalis*, *Moringa oleifera*, Muller Hilton.

# ÍNDICE

AGRADECIMIENTO .....	II
AGRADECIMIENTO .....	III
RESUMEN.....	IV
SUMMARY.....	VI
ÍNDICE.....	VIII
ÍNDICE DE TABLAS .....	XI
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XII
INTRODUCCIÓN .....	XIII
CAPÍTULO I.....	15
1 PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN .....	15
1.1 Identificación y planteamiento del problema .....	15
1.2 Delimitación del problema.....	17
1.3 Formulación del problema .....	18
1.3.1 Problema General .....	18
1.3.2 Problema Específico: .....	18
1.4 Formulación de los Objetivos.....	19
1.4.1 Objetivo General .....	19
1.5 Objetivos Específicos.....	19
1.6 Justificación e importancia de la Investigación .....	19
1.7 Limitaciones de la investigación .....	20
CAPITULO II.....	21
2 MARCO TEÓRICO.....	21
2.1 Antecedentes de la investigación .....	21
2.1.1 Antecedentes Internacionales .....	21
2.1.2 Antecedentes Nacionales.....	22
2.1.3 Antecedentes Locales .....	24
2.2 Bases Teóricas y científicas .....	25
2.2.1 Endodencia .....	25
2.2.2 Hidróxido de calcio.....	27

2.2.3	Enterococcus Faecalis .....	29
2.2.4	Fito Terapéutica .....	34
2.3	Definición de Términos Básicos.....	37
2.4	Formulación de Hipótesis .....	38
2.4.1	Hipótesis de Investigación.....	38
2.4.2	Ho: Hipótesis Nula.....	38
2.4.3	Hipótesis específicas.....	39
2.5	Identificación de las variables .....	39
2.5.1	Variable Independiente .....	39
2.5.2	Variables Dependiente .....	39
2.6	Operacionalización de las variables .....	40
CAPITULO III .....		41
3	MARCO METODOLÓGICO .....	41
3.1	Nivel y tipo de investigación.....	41
3.1.1	Nivel .....	41
3.1.2	Tipo .....	41
3.2	Diseño y Método de la Investigación: Cuasi experimental.....	42
3.3	Determinación del Universo y Muestra .....	42
3.3.1	Universo .....	42
3.3.2	Muestra .....	42
3.4	Unidad de análisis .....	43
3.5	Unidad de observación .....	43
3.6	Tipo de Muestreo.....	43
3.7	Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos .....	43
3.7.1	Técnica.....	43
3.7.2	Instrumento .....	43
3.8	Técnicas de procesamiento .....	44
3.8.1	Recolección del material .....	44
3.8.2	Marcha fotoquímica.....	44
3.9	Resultados de la marcha fotoquímica (anexo 7).....	47
3.9.1	Técnica de procesamiento de análisis de datos.....	48

CAPÍTULO IV.....	50
4 PROCESAMIENTO DE DATOS.....	50
4.1 Resultados estadísticos descriptivos .....	50
4.2 Presentación de los resultados de ensayo microbiológico: antibiograma (anexo 12).....	56
CAPITULO V.....	64
5 DISCUSIÓN .....	64
CONCLUSIONES .....	67
SUGERENCIAS Y RECOMENDACIONES .....	68
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69
ANEXOS .....	88

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Efectividad antibacteriana de la pasta de moringa al 100% sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212. ....	50
Tabla 2. Efectividad antibacteriana de la pasta de moringa al 50% sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 .....	52
Tabla 3. Efectividad antibacteriana de la pasta de hidróxido de calcio al 100% sobre <i>Enterococcus faecalis</i> .....	53
Tabla 4. Distribución de los grupos de estudio experimental y control de ensayo in vitro a las 24, 48 y 72 horas .....	54
Tabla 5. Análisis de Normalidad por Shapiro Wilk ( $n < 50$ ) de las pastas de prueba frente.....	60
Tabla 6. Media y desviación estándar de los halos de inhibición (mm) de pastas de prueba en estudio frente a <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212.....	61

## ÍNDICE DE FIGURAS

Gráfico 1. Efectividad antibacteriana de la pasta de moringa al 100% sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 .....	51
Gráfico 2. Efectividad antibacteriana de la pasta de moringa al 50% sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 .....	52
Gráfico 3. Efectividad antibacteriana de la pasta de hidróxido de calcio al 100% sobre <i>Enterococcus faecalis</i> .....	53
Gráfico 4. Medias de halos de inhibición de las pastas de moringa al 50% y 100% y el grupo control de la pasta de hidróxido de calcio al 100% frente a <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 en milímetros (mm) a las 24, 48 y 72 horas en agar Mueller Hinton .....	54
Gráfico 5, Distribución de los grupos de estudio experimental y control de ensayo in vitro a las 24, 48 y 72 horas .....	55

## INTRODUCCIÓN

En odontología existen diferentes microorganismos que desarrollan diversas patologías, como las patologías periapicales o pulpares (1).

El motivo de las atenciones clínicas para retratamientos de conductos es cerca del 63% de los casos (2), esto se debe a la compleja anatomía radicular o la resistencia de antibióticos de ciertas bacterias; como es el caso *Enterococcus faecalis* (siendo este el más resistente), que conlleva al fracaso endodóntico (3, 4).

Diversos estudios en el campo de la microbiología de los últimos años han demostrado que el *Enterococcus faecalis* se presenta con mucha regularidad en errores de tratamientos endodónticos por contaminación primaria (5).

Las infecciones posteriores a una endodoncia se deben al ingreso de este microorganismo en el conducto, por filtración directa o por la supervivencia de la bacteria después de haber finalizado el tratamiento. Así es como, muchas investigaciones se realizan bajo propósito de encontrar como prevenirlas y darles tratamiento (6).

El *Enterococcus faecalis* es una bacteria coco gram positivo anaerobio facultativo a quien se atribuye ser el causante de los fracasos endodónticos por sus diferentes particularidades, como lo es; la capacidad que tiene para luchar con otras bacterias, invadir túbulos de dentina, bregar a recursos de escasos nutrientes, además de resistir el pH alcalino (pH 12) invadiendo áreas anatómicas. Donde incluso la preparación biomecánica, una medicina intraconducto y el uso de irritantes no son suficientes para eliminarlo, pues impiden el correcto sellado de los conductos que por con siguiente favorecerán a la persistencia de microorganismos resistentes. (7).

Por muchos años se ha empleado diversos componentes antibacterianos para su eliminación como mediaciones intraconducto como; paramonoclorofenol alcanforado, el formocresol, penicilina, estreptomina, glutaraldehído,

corticoides, Hidróxido de calcio, etc. Consiguiendo el éxito de los tratamientos; sin embargo se evidencio que algunos de ellos llegan a ser irritantes para los componentes periapicales. A pesar de todos estos aportes, aún hay microorganismos resistentes en los dientes obturados. Todo esto propone desafíos frecuentes para el profesional en preservar la armonía de la interacción hospedero patógeno, para conservar un cuadro fisiológico sin signos y síntomas y una evolución favorable del tratamiento con mejores resultados (8).

En consecuencia, aún los estudios por hallar una medicación compatible con los tejidos y suficiente que contribuya a eliminar su colonización continúan (9).

Se realizan estudios en todo el mundo para identificar y estudiar elementos antibacterianos encontrados en plantas medicinales (10).

La ciencia enfocada en el estudio de los vegetales con finalidades terapéuticas es la fitoterapia; siendo el caso de la Moringa oleifera que es naturaleza medicinal y antibacteriana (11), siendo las hojas que contienen muchos metabolitos secundarios de gran importancia farmacológica y metabolitos con propiedades antibacterianas, encontrando; alcaloides, flavonoides y saponinas (12).

Investigaciones demuestran la presencia de propiedades antimicrobianas en porcentajes altos de Moringa oleifera, que vetan el asentamiento de colonias de *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhii* *Staphylococcus aureus* (13), *Pseudomonas aeruginosas* así como *Escherichia coli* (14).

Por otra parte, todavía no se ha realizado ninguna investigación sobre el efecto antibacteriano de Moringa oleifera o su citotoxicidad como desinfectante del conducto radicular y esta investigación tiene esa finalidad.

# CAPÍTULO I

## 1 PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### 1.1 Identificación y planteamiento del problema

Las infecciones a nivel dento-radicular son muy comunes y de alta prevalencia, un problema de salud pública, que requiere ser evaluado y controlado sobre todo ante un problema de resistencia bacteriana que son parte de muchos factores que conlleva a un fracaso en el tratamiento endodóntico direccionando así a un retratamiento, como tal en estos últimos años se puede observar que aún se estiman problemas que derivan en retratamientos, en dependencia, sobre todo, de variaciones anatómicas y otras condicionantes que complican la terapia como la resistencia bacteriana (15).

Las piezas endodonciadas con periodontitis apical persistente, presentan una disbiosis con un porcentaje de uno a tres especies por conducto (16, 17).

El *Enterococcus faecalis*, quien es parte de los factores de fracaso en los tratamientos endodóntico, perteneciente a la clasificación de coco gram positivo anaerobio facultativo, se encuentra entre el 30% al 90% en las piezas dentarias endodonciadas (18), es capaz de liberar enzimas que degradan al tejido de la pulpa y al del periápice, posibilitando el avance de la incursión bacteriana; estas enzimas segregadas son principalmente la heparinasa, fibrinolisisina y la colágenasa que son capaces de degradar las fibras colágenas del tejido conjuntivo (19).

Una de las características de esta bacteria es que tolera el pH alcalino (12 pH) lo que la vuelve altamente resistente a las medicaciones intraconducto (20).

De este modo para eliminar las bacterias y sus componentes del tejido pulpar del interior de los conductos radiculares, además de una adecuada instrumentación e irrigación de conductos, es necesaria la medicación intraconducto con materiales poco irritantes ya que en la periodontitis apical suelen producirse reabsorciones apicales que debilitan el tejido circundante, además estas reabsorciones que tienen forma de cráteres favorecen la colonización bacteriana tornándolos inaccesibles al tratamiento y asegurando su persistencia (21).

En la actualidad la medicina complementaria y alternativa por estudios logrados por la Organización Mundial de la Salud, proporcionan una base científica de la efectividad de muchas plantas para tratar diversas enfermedades, patologías e infecciones (22).

La planta hindú, *Moringa oleífera* perteneciente a la familia las Moringaceae, llamada el árbol de la vida y considerada sagrada por sus múltiples usos medicinales (23).

Diversas investigaciones demostraron propiedades medicinales y antimicrobianas de la *Moringa Oleífera* que inhibe la colonización del *Enterococcus faecalis* en condiciones in vitro (24).

La actividad antibacteriana es porque posee componentes bioactivos como el Isotiocionato de Bencilo, el cual inhibe enzimas esenciales, provocando daño en la membrana para la posterior pérdida de su integridad, distribuidos en todas las partes de esta planta (25).

Las hojas son la parte más utilizada de la planta y es el principal protagonista de propiedades farmacológicas atribuidas a esta planta, aunque los estudios científicos en seres humanos es aún limitada (26), empero se han realizado estudios in vitro en donde indican un buen pronóstico inhibiendo el halo bacteriano del *Enterococcus faecalis*, aplicándolo de manera directa como extracto sobre el cultivo bacteriano, por lo cual el propósito del presente

trabajo de investigación es evaluar el efecto antibacteriano de las hojas micropulverizadas de la *Moringa Oleifera* en forma de pasta sobre el *Enterococcus Faecalis* ATCC®29212 in vitro.

## 1.2 Delimitación del problema

Las cepas bacterianas multirresistentes son cada vez mayores en el mundo (27). El *Enterococcus faecalis* ATCC®29212 es una bacteria resistente a la antibioticoterapia (28), por lo que a nivel dentarios la endodoncia elimina al *Enterococcus faecalis* de los conductos radiculares (29, 30, 31, 32, 33).

En árbol de *Moringa oleifera* altamente estimado por sus propiedades medicinales e investigaciones como antibacteriano (34, 35).

Olson y Fahey añaden que el efecto antibacteriano de la *Moringa oleifera* se debe al compuesto químico 4-(4'- O - acetilo -  $\alpha$  - L-rhamnopiranosiloxi) - bencilisotiocianato que se encuentran en las hojas de esta planta el cual inhibe las enzimas de la membrana celular (36, 37).

Estas características atraen nuestro interés como antibacteriano aplicado sobre las bacterias *Enterococcus faecalis* ya que siendo una bacteria resistente actualmente a antibióticos y ligeramente resistente a medios con pH alcalinos; se ha optado por aplicar los efectos fotogénicos de esta planta ya que han demostrado antecedentes previos, efectivos positivos al lograr inhibir gran parte del halo bacteriano en un antibiograma.

De la misma forma se utilizaron la unión de 3 soluciones que son la moringa al 50% y 100% con cloruro de sodio al 0.09% e hidróxido de calcio al 100% con suero al 0.09% de manera que se pueden comparar con ésta última solución y comprobar su nivel de efectividad antibacteriana en un promedio de 24 horas, 48 horas y a las 72 horas.

### **1.3 Formulación del problema**

#### **1.3.1 Problema General**

¿Cuál es la actividad antibacteriana de la pasta de Moringa Oleífera sobre el *Enterococcus Faecalis* ATCC®29212 (Estudio in Vitro) Huánuco - 2022?

#### **1.3.2 Problema Específico:**

¿Cuál es el efecto antibacteriano del hidróxido de Calcio al 100% en 24 horas, 48 horas y 72 horas sobre el *Enterococcus Faecalis* ATCC®29212 (Estudio in Vitro) Huánuco - 2022?

¿Cuál es el efecto antibacteriano de la Moringa Oleífera al 100% en 24 horas, 48 horas y 72 horas sobre el *Enterococcus Faecalis* ATCC®29212 (Estudio in Vitro) Huánuco - 2022?

¿Cuál es el efecto antibacteriano de la Moringa Oleífera al 50% en 24 horas, 48 horas y 72 horas sobre el *Enterococcus Faecalis* ATCC®29212 (Estudio in Vitro) Huánuco - 2022?

¿Cuál es el efecto antibacteriano de la Moringa Oleífera en comparación con el hidróxido de calcio al 100% a las 24 horas, 48 horas y 72 horas sobre el *Enterococcus Faecalis* ATCC®29212 (Estudio in Vitro) Huánuco - 2022?

## **1.4 Formulación de los Objetivos**

### **1.4.1 Objetivo General**

Determinar la actividad antibacteriana de la pasta de Moringa Oleífera sobre el *Enterococcus Faecalis* ATCC®29212 (Estudio in Vitro) Huánuco – 2022.

### **1.5 Objetivos Específicos**

- Determinar el efecto antibacteriano del hidróxido de Calcio al 100% en 24 horas, 48 horas y a las 72 horas sobre el *Enterococcus Faecalis* ATCC®29212 (Estudio in Vitro) Huánuco – 2022.
- Determinar el efecto antibacteriano de la Moringa Oleífera al 100% en 24 horas, 48 horas y a las 72 horas sobre el *Enterococcus Faecalis* ATCC®29212 (Estudio in Vitro) Huánuco – 2022.
- Determinar el efecto antibacteriano de la Moringa Oleífera al 50% en 24 horas, 48 horas y a las 72 horas sobre el *Enterococcus Faecalis* ATCC®29212 (Estudio in Vitro) Huánuco – 2022.
- Determinar el efecto antibacteriano de la Moringa Oleífera en comparación al hidróxido de calcio al 100% a las 24 horas, 48 horas y 72 horas sobre el *Enterococcus Faecalis* ATCC®29212 (Estudio in Vitro) Huánuco – 2022.

### **1.6 Justificación e importancia de la Investigación**

En la ciencia odontológica se conoce al *Enterococcus faecalis* como una bacteria resistente e infectante en los conductos dentarios que anteriormente han sido tratado en endodoncia.

A pesar de una adecuada preparación biomecánica o la elección de un adecuado irrigante e incluso, una buena técnica de obturación, esta bacteria

continúa con su resistencia a ser eliminado, lo que conlleva en muchos casos; a frustrar el resultado exitoso del tratamiento endodóntico.

Este estudio es de importancia e interés clínico porque pretende solucionar (In Vitro) y demostrar la eliminación completa de bacterias resistentes, colonizantes e infectantes como es el caso del *Enterococcus faecalis*; además de tener importancia teórica porque contribuye en el conocimiento de la capacidad antibacteriana de la Moringa oleífera frente a esta bacteria; además también de repercusión social porque con estudios clínicos complementarios futuros (es sus diferentes fases) se podría optimizar como una alternativa de medicamento intraconducto, asegurando un mayor éxito post tratamiento frente a las bacterias resistentes siendo aplicada la hoja micropulverizada de la Moringa oleífera en forma de pasta.

### **1.7 Limitaciones de la investigación**

- Se tiene como un grado de limitación la falta de laboratorio especializado para realizar la descripción taxonómica cuantitativa de la hoja micropulverizada Moringa oleífera.
- La falta de laboratorios para seleccionar y extraer metabolitos específicos que permitirían una investigación más específica.
- La dificultad para ubicar laboratorios certificados por la Dirección Regional de Salud en la localidad de Huánuco.
- La dificultad para conseguir la disponibilidad de reactivos en los laboratorios de la UNHEVAL, así como ubicar dichos reactivos en tiendas comerciales a nivel local y nacional.

## CAPITULO II

### 2 MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Antecedentes de la investigación

##### 2.1.1 Antecedentes Internacionales

Príncipe E, Amin M, Imad A, Srinivasan N, Palmiro P. 2020. Uso de un extracto hidroalcohólico de *Moringa oleífera* Hojas para la síntesis verdosa de nanopartículas de bismuto y evaluar sus actividades antimicrobianas y antioxidantes. El objetivo obtener una síntesis verdosa de nanopartículas de bismuto encapsuladas fotoquímicas mediante un extracto hidroalcohólico de las hojas en polvo. Como resultado se demostró que el concentrado de *Moringa oleífera* - hojas y las nanopartículas de bismuto sintetizadas ejercen una potente actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, y *Enterococcus faecalis* (valores de MIC estimados para el extracto: 500, 250, 250 y 250 µg / mL; valores de MIC estimados para las nanopartículas de bismuto: 500, 500, 500 y 250µg /mL, respectivamente). Finalmente concluyendo que la investigación fue exitosa, demostrando una actividad antioxidante, antibacteriana y antifúngica positiva (38).

Muhammad S, Muhammad Ali. 2019. Actividad antibacteriana del Extracto de las hojas de *Moringa oleifera* contra bacterias aisladas de pacientes asistentes General Sani Abacha Specialist Hospital Damaturu. Tuvo por objetivo establecer los metabolitos secundarios y la actividad antibacteriana de *Moringa oleifera* como extracto de la hoja frente a bacterias aisladas de pacientes que acuden al Hospital General Sani Abacha, como; *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* *Shigella*, *Salmonella typhi*, y *Staphylococcus aureus*. El análisis estadístico del resultado señaló que el extracto de etanol presentó una mayor actividad

antibacteriana con una zona de inhibición promedio de 12,49 mm que los extractos acuosos (8,00 mm). Basado en la susceptibilidad de los organismos a los extractos de *Shigella spp* resultó ser el organismo más susceptible con una zona media de inhibición de 12,46 milímetros, seguido *Staphylococcus aureus* 11,47 milímetros, *Salmonella typhi* 10,81 milímetros, *Escherichia coli* 10,81 milímetros, mientras que la zona media baja de inhibición se muestra mediante *Enterococcus faecalis* 9,76 milímetros (39).

Oliveira J, Silva G, Albuquerque R, Lira de Sousa J- Brasil 2019. In vitro efecto antibacteriano de acuosos y etanólicos Moringa extractos de hojas. El objetivo fue obtener extractos de hojas de Moringa acuoso y etanólico para luego ver el efecto antibacteriano frente a bacterias grampositivas y gramnegativas. El método fue empapar discos de papel en extracto a 20 g/180ml y 10g/190 ml los cuales posteriormente fueron probados para *E. coli* (ATCC29212), *Staphylococcus aureus* ATCC®25923, *Vibrio parahaemolyticus*, *Enterococcus faecalis* ATCC®29212, *Salmonella enteritidis* y *P. aeruginosa* ATCC®27853. Donde resulto la resistencia de las cepas *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis*, resultaron ser resistentes a absolutamente todos los tratamientos y la actividad antibacteriana más eficientes fue para *Staphylococcus aureus*, *Vibro parahaemolyticus*, *Enterococcus faecalis* y *Aeromona caviae* (40).

### **2.1.2 Antecedentes Nacionales**

Ríos A, Yamasaki F, Del valle J, Caballero C. Lima, Perú 2019. Efecto antibacteriano del extracto metanólico de Moringa oleífera combinado con hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC®29212.

El objetivo fue valorar la eficacia antibacteriana de Moringa oleífera en extracto añadido Hidróxido de calcio en cepas de *Enterococcus faecalis*.

Los extractos metanólicos fueron de tallos y hojas mezcladas con hidróxido de calcio, donde; por medio del método Kirby-Bauer y el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) se evaluó el efecto antibacteriano. Como resultado se examinó que al cotejar el extracto metanólico de Moringa oleífera en presencia o no de Hidróxido de calcio, este último tiene por si solo el efecto antibacteriano. Concluyendo que el extracto metanólico de Moringa oleifera no tiene la potencia de acrecentar el Hidróxido de calcio (41).

Arévalo L, Aguilar M, Caballero S, Gonzales N, Del valle J. Lima, Perú 2018. Efecto antibacteriano y citotóxico de Moringa oleífera y Azadirachta indica como extractos metanólicos contra cepas de *Enterococcus faecalis*. Tuvo por objetivo evaluar los efectos antibacterianos y citotóxico de 2 extractos en etanol tanto de Azadirachta indica y de Moringa frente a cepas de Enterococcus faecalis ATCC® 29212 In Vitro. El método fue según la técnica de difusión en agar, la concentración mínima inhibitoria (MIC). El resultado fue el mayor efecto antibacteriano en 24 horas iniciales y 48 posteriores horas para *Enterococcus faecalis* con Moringa oleífera, donde se evidencio zonas de crecimiento inhibitorio de  $35,5 \pm 1.05$  y  $44.83 \pm 0,98$ , correspondientemente. En conclusión, se evidencio que el extracto metanólico de Azadirachta indica y Moringa oleífera poseen efecto antibacteriano contra Enterococcus faecalis cepas durante las primeras 24 y 48 horas. Ambos extractos no mostraron toxicidad contra las líneas celulares bajo bajas concentraciones (42).

Híjar A, Lucía O. Lima, Perú 2017. Efecto antibacteriano y citotóxico de dos extractos metanólicos en base de Moringa oleífera (moringa) y Azadirachta (neem) sobre cepas de *Enterococcus faecalis*. El objetivo fue evaluar y demostrar la eficacia de Moringa oleifera en la cepa ATCC®29212 del *Enterococcus faecalis*. Usando como métodos el extracto de a Azadirachta indica y Moringa respectivamente. La

efectividad antibacteriana fue evaluada 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. En consecuencia, se encontró que extracto en etanol de *Moringa oleífera* presento la mayor actividad antibacteriana contra el *Enterococcus faecalis* en 24 horas y 48 horas, alcanzando un halo inhibitorio de  $35.5 \pm 1.05$  y  $44.83 \pm 0.98$ , correspondientemente. Se tuvo la concentración mínima inhibitoria para las dos esencias de 75 micras ( $\mu\text{g}$ )/ml. El impacto bactericida de la esencia de *Azadirachta* señalo una concentración de 25 micras ( $\mu\text{g}$ )/ml y para la esencia de *Moringa oleífera* fue de 75 micras ( $\mu\text{g}$ )/ml. Se pudo demostrar que ambos extractos presentaban efecto antibacteriano contra cepas de *Enterococcus faecalis* a las 24 horas y 48 horas y que ninguno de las esencias fue ser nocivo para las células a bajas concentraciones (43).Antecedentes Locales

Ñaupá Y, Ballarte A. Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico y aceite esencial del *Zingiber officinale* (jengibre) al 15% en comparación con el hipoclorito de sodio al 5,25% sobre la *Enterococcus faecalis* en el laboratorio Bio Vital Huánuco 2021. Tuvo por objetivo dar a conocer la efectividad antibacteriana del jengibre al 15% en comparación con el hipoclorito de sodio al 5,25% sobre cepas de *Enterococcus faecalis*, tomando como método que la investigación pertenece al nivel explicativo de tipo experimental y observacional, prospectivo, longitudinal, analítico; con un diseño pre experimental, utilizando 10 placas con cultivo de Müller Hinton donde estuvo cultivado el *Enterococcus faecalis*, teniendo como resultado de un total de 30 datos al 100% medido en tiempo de las 24 horas, 48 horas y 72 horas se tiene 7 que representa al 23,3% a la medición de 6mm halo de inhibición concluyendo con un promedio de 7,78. Los que se le aplico el aceite esencial de jengibre, existiendo variación entre la acción antibacteriana in vitro del concentrado hidroalcolico de jengibre al 15% un ( $p$  valor < 0,05) y el hipoclorito 5,25% sobre la *Enterococcus faecalis*

evidenciándose de este modo el efecto antibacteriano para la presentación como aceite esencial de zingiber (44).

## **2.2 Bases Teóricas y científicas**

### **2.2.1 Endodoncia**

El tratamiento de conductos es un método clínico con un éxito de 82,8% al 93,3% en piezas sin diagnóstico de periodontitis apical, mientras que un diagnóstico de periodontitis apical es del 75,6% al 87,77%; por lo tanto es fundamental que el tejido pulpar afectado sea eliminado conjuntamente a los microorganismos. La teoría refuerza que uno de los principales fracasos en la endodoncia es la persistencia bacteriana o la recontaminación del conducto que se da por un sellado inapropiado (45).

#### **2.2.1.1 Complicaciones periapicales**

- **Absceso agudo**

El absceso agudo podría ser de origen químico, mecánico o la consecuencia de una invasión bacteriana. En ocasiones no se puede drenar porque se encuentra encapsulado y la infección se expande donde hay poca resistencia, ingresando por el foramen apical (46).

- **Absceso crónico**

Es el resultado de la muerte pulpar y cuando el proceso infeccioso se ha extendido apicalmente, como consecuencia de la cronicidad de un absceso agudo o de una mala práctica endodóntica, se caracteriza por ser poco virulento, pero de transcurso largo en el hueso alveolar (47).

#### **2.2.1.2 Microbiología endodóntica**

La microbiología es el fundamento para entender el procedimiento adecuado para el abordaje de una infección

endodóntica, para lograr finalmente la eliminación bacteriana de los conductos radiculares y así prevenir la propagación hacia el tejido periapical (48).

Actualmente, las especies bacterianas aceptadas que subvencionan la formación de enfermedades pulpares y periapicales son: *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus*, *Bacteroides*, *Prevotella intermedia*, *Lactobacillus*, *Campylobacter*, *Actinomyces*, *Capnocytophaga ochracea*, *Porphyromonas endodontalis*, *Prevotella bucae*, *Prevotella oralis*, *Prevotella denticola*, *Eubacterium nodatum*, *Porphyromona gingivalis*, *Bacteroides fragilis*, *Enterococcus faecalis*, *Einella corrodens*, *Enterobacter agglomerans*. Una de las causas principales del fracaso del tratamiento pulpar es la supervivencia de la flora del conducto radicular que está constituido por un número pequeño de bacterias, que persisten, se multiplican y migran de los conductos radiculares al tejido apical; entre ellas el *Enterococcus faecalis*, una bacteria anaerobia, facultativa, gram positiva presente en periodontitis apicales asintomáticas, el cual se habitúa y soporta medios hostiles, por lo que su eliminación es bastante complicada (49). Cuando estos microorganismos se reproducen en gran cantidad es cuando llegan a ser patógenos pudiendo invadir los tejidos periapicales (50).

### **2.2.1.3 Medicación Intraconducto**

El uso de los medicina en el interior del conducto es con la finalidad de disipar los microorganismos sobrevivientes (posterior a la instrumentación biomecánica), sus toxinas y retirar el tejido orgánico. Estos fármacos deben de impedir la recolonización bacteriana y evitar así su invasión (51).

Por lo tanto estos medicamentos deben tener propiedades que erradiquen agentes bacterianos intraconductos, que prolonguen su

efecto a largo plazo, que las sustancias orgánicas no lo afecten y que a la vez favorezca a su eliminación, que ingrese fácilmente a los conductos y túbulos de la dentina, que no irrite el tejido periradicular, que sus propiedades sean inocuas o inofensivas para el tejido circundante, que impida la calcificación en los tejidos periradiculares, que no tenga efecto en las propiedades físicas del material de obturación temporal, fácil colocación y remoción, además de ser radiopaco y no pigmentar en diente (52).

### **2.2.2 Hidróxido de calcio**

Fue y sigue siendo el más utilizado de los medicamentos intraconducto y el más acertado para la eliminación microbiana de conductos infectados por tener un pH de 12,4 a 12,8 que le permite poseer el efecto bactericida además de ser dentinogénica y osteogénica (52).

En la actualidad aun no existen estudios donde indiquen que existe un medicamento intraconducto que inhibe por completo la supervivencia del *Enterococcus faecalis* en especial en procesos periapicales crónicos, es por eso que las recientes investigaciones se orientan a la eliminación del biofilm bacteriano, usando previamente como irrigante el hipoclorito de sodio en un porcentaje de 5,25% y con medicación de hidróxido de calcio (53).

- Propiedades
- Estimula la calcificación por activación osteoblástica, aumentando el pH en los tejidos del diente.
- Es antibacteriano, pudiendo esterilizar hasta el 88% de un conducto radicular por su alto pH el cual disminuye la concentración de iones H<sup>+</sup>.

- Disminuye el edema.
- Destruye el exudado.
- Genera barrera mecánica de cicatrización apical.
- Sella el sistema de conducto.
- Toxicidad equilibrada cuando se mezcla con solución salina o anestesia.
- Sensibilidad reducida.
- Reduce la inflamación en tejidos periapicales.
- Control del absceso periapical reduciendo el exudado que persiste en la región apical.
- Al amalgamar la actividad de hidróxido de calcio con hipoclorito de sodio, promueve la disolución del tejido pulpar.
- Evita la reabsorción de las raíces dentales.
- Para conductos radiculares anatómicamente complejos donde los instrumentos y a los irrigantes tienen un acceso limitado (54).

### **2.2.2.1 Actividad antimicrobiana**

El mecanismo de acción del hidróxido de calcio para controlar de la actividad enzimática bacteriana, en su alto potencial de hidrogeno (12.6). Afecta a la bacteria liberando iones hidroxilos, que cambian la constitución de la membrana plasmática celular bacteriano, interfiriendo en el transporte orgánico y de nutrientes (55). En consecuencia, favorece su inactivación reversible e irreversible, en función precisamente al periodo o tiempo de exposición frente a los microorganismos, reconociendo que su

eficacia requiere que el hidróxido de calcio intervenga por periodos prolongados.

Con base en el conocimiento actual del Hidróxido de calcio, se elige su uso como agente antimicrobiano sobre otras sustancias, porque se sabe que disminuye notablemente la progresión de microorganismos en el tejido dental como en el tejido subyacente (56,57).

### **2.2.3 Enterococcus Faecalis**

El *Enterococcus faecalis* una bacteria coco gram positivo facultativo, el cual pertenece al microbiota normal del tracto gastrointestinal, el tracto urogenital femenino y la boca. Es autor de diversas enfermedades mortíferas en el humano debido a su facultad de supervivencia y resistencia a medicamentos y ambientes que invade. Debido a su presencia en la cavidad bucal y a estudios que confirman su alto grado de toxicidad es que se le asigna ser el principal causante del fracaso endodóntico (58, 59)

Esta bacteria está en menor cantidad en la boca, pero varias investigaciones han hallado este microorganismo en conductos endodónticamente tratados y obturados asociados a infecciones periapicales crónicas (60, 61)

#### **2.2.3.1 Fisiología y estructura del Enterococcus Faecalis**

Los Enterococcus generalmente se agrupan en parejas y en cadenas cortas. Tienen necesidades nutricionales de vitamina B, bases de los ácidos nucleicos y una fuente de carbono, como la glucosa (62).

#### **2.2.3.2 Enterococcus Faecalis y su relación con la Endodoncia**

El microbiota bacteriano en una infección intrarradicular puede

variar según cual sea el tipo; sea aguda o crónica, primaria o secundaria, el *Enterococcus faecalis* está presente en cualquiera de estos tipos, aunque claro está, en diferentes porcentajes, siendo más prevalente y frecuente en las infecciones persistentes. Una bacteria como esta que es predominante y resistente a fármacos como la vancomicina, a sustancias desinfectantes y a medicamentos intraconductos, es una amenaza para la eliminación de un proceso infeccioso periapical (63).

En 1 mililitro de saliva existe entre 600 a 700 diferentes especies bacterianas

La gravedad de una infección endodóntica se debe a las características de los microbios presentes, a la condición en la que se encuentra el tejido pulpar y a la capacidad de defensa del hospedador. Cuando el tejido duro dental pierde su estructura la microbiota común está compuesta por bacterias gram + y su vez gram - ostentes, que infectan la pulpa. En consecuencia, el objetivo de la instrumentación, el uso de irrigantes y los medicamentos intraconductos son para eliminar estas bacterias, que algunas permanecen en los conductos tratados, en especial los cocos gram positivos como es el *Enterococcus faecalis* (64, 65, 66).

La infección que desarrolla *Enterococcus faecalis* depende de varios componentes de esta bacteria, tales como son: la proteína de superficie extracelular, que promueve la adherencia inmune; la colonización y la circulación; la presencia de un pilli que es fundamental en la formación de una biopelícula, la cual se ubica en la proteína Bps; la citolisina o hemolisina que le otorga propiedades B-hemolíticas en humanos y es bactericida contra otras bacterias grampositivas; la gelatinasa, que proporciona nutrientes a las bacterias que degradan los tejidos del huésped y de alguna manera

participa en la conformación de biopelículas (64); la sal biliar hidrolasa, le permite hidrolizar la bilis, este factor en conjunto con la producción de cápsula y la formación de biofilm contribuyen con la patogénesis de este organismo (65); la hialuronidasa que degrada la molécula de mucopolisacárido del tejido conectivo el cual posibilita la dispensación bacteriana; las feromonas que controlan la respuesta de inflamación inmediatamente; el antígeno A que está asociado con la unión bacteriana a superficies inertes como lo es la dentina y tbn a células vivas y finalmente la proteína de superficie celular (Ace) que permite la unión al colágeno y puede jugar un papel importante en el desarrollo de una endocarditis (65).

En fracasos endodónticos se debe principalmente a la formación de la biopelícula como agente virulento, añadido su supervivencia en medios de escasos nutrientes por su producción de gelatinasa que hidroliza gelatina, el colágeno, el fibrinógeno, la caseína, la hemoglobina y además la insulina (66, 67), que permiten deteriorar la matriz periodontal, suministrarse y provocar inflamación en el tejido del periodonto (68).

En 1982, Fabricius y colaboradores (65) observaron a 11 bacterias incluida el *Enterococcus faecalis*, que puede sobrevivir durante 6 meses en nueve raíces inoculadas de chimpancés induciendo además a la inflamación apical leve. Otros factores de virulencia que permiten la secreción de toxinas para citolisina que puede inducir a la supervivencia por tiempos prolongados en el conducto radicular, conocidas como feromonas y ácido lipoteicoico (66, 67),

La adhesina proteica y la proteína de superficie celular del *Enterococcus faecalis*, son elaboradas en estados de tensión y factor del huésped que junto al colágeno y suero cooperan a la unión bacteriana a la dentina (68).

En una investigación del Brasil, Pinheiros y sus colaboradores, estudiaron 18 dientes que presentaban infección subsistente crónica en el interior del conducto, entonces se analizaron las muestras respectivas del antes y después a la preparación química. El resultado fue que el *Enterococcus faecalis* se detectó en el 77.8 % y 72.2 % en las muestras previas al tratamiento químico utilizando ensayos establecidos en RNA receptor y DNA receptor, y después del tratamiento la cantidad de RNA receptor y DNA receptor fue notablemente menor (69).

Al microscopio se observó que el *Enterococcus faecalis* ingresa a la dentina a través de sus túbulos y se conforma como un elemento más mediante el cual le es posible a la bacteria soportar el ambiente alcalino del hidróxido de calcio e incluso otros medicamentos (70), además la expresión de determinados genes de esta bacteria, así como el funcionamiento de una bomba de protones, juegan un rol preponderante en este fenómeno (72, 73).

### **2.2.3.3 Mecanismo de resistencia del *Enterococcus faecalis* a los antimicrobianos**

Los iones de calcio liberados por el hidróxido de calcio son capaces de alterar el ambiente celular acuoso y producir alteraciones de su estructura de la membrana alterando el ADN de la bacteria pero cuando el *Enterococcus faecalis* llega a la fase de latencia, resiste más a estos iones, por un mecanismo que aún no ha sido explicado en su totalidad (65). Por otro lado, condiciones como la capacidad de su supervivencia en ambientes de escasos nutrientes es importante a pesar de su inanición (66) o incluso en otras condiciones como la exposición a hipoclorito de sodio hacen que se active una respuesta de estrés de determinados genes sintetizando proteínas que les permite sobrevivir y recuperarse (74,75).

El hidróxido de calcio presenta un pH generalmente de 12,6 y al llegar a los túbulos dentinarios su alcalinidad no supera los 10,3 del pH el cual no es suficiente para eliminar al *Enterococcus faecalis*, todo eso se debe al efecto Buffer de la dentina (76). Además de lo descrito se ha explicado la existencia de bombas de protones que tienen la condición de tornar ácido el citoplasma, sobreviviendo a condiciones de PH alto (77) que en una respuesta de la bacteria cuando un ión hidroxilo pretende ingresar, entonces se activa esta bomba y responde enviando iones potasio, que son de carga positiva; acidificando e impidiendo la inhibición enzimática (78).

#### **2.2.3.4 Causas de fracaso endodòntico**

Como agentes etiológicos primarios de necrosis pulpar y lesiones periapicales, el tejido pulpar y las bacterias persistentes en el tercio apical; deben ser eliminados para una endodoncia exitosa ya que una desinfección inadecuada o incompleta de los conductos radiculares conllevaran al su posterior fracaso (79, 80). Zonas como las ramificaciones, istmo, deltas o deformidades en el canal donde la instrumentación o la medicación no han sido posibles o escasamente posibles puede albergar restos de pulpa necrótica o bacterias, a pesar que en una radiografía podamos observar como una obturación adecuada, no sería posible observar si se llegará a producir la filtración marginal de estas bacterias (81).

Otra causa en estudio es la probable resistencia que el *Enterococcus faecalis* presenta frente a la medicación antibacteriana intraconducto con hidróxido de calcio lo (82) que probablemente permitiría a que la bacteria subsista en estado quiescentes (83, 84), esta persistencia se debe por la resistencia al pH de la bacteria (85). Las consecuencias de obstrucción en dentina pueden ocasionar un difícil acceso del hidróxido de calcio hacia los conductos, impidiendo su acción (86).

## 2.2.4 Fito Terapéutica

La fitoterapia es la ciencia que estudia el uso de las plantas con la finalidad de prevenir, disminuir o curar enfermedades, mediante la obtención de sus principios activos (87).

Un desafío actual del campo de la medicina es brindar; como alternativa, el uso de sustancias naturales en el tratamiento de enfermedades, incluidas las enfermedades infecciosas (88), es así como la investigación científica ha evolucionado en la fabricación de fitofármacos, que son nuevos compuestos con actividades biológicas a partir de fuentes naturales (89) sintetizadas para posteriormente ser empleadas al nivel de los fármacos (90).

### ❖ Moringa Oleifera



**Figura 1.** Moringa oleifera en su forma silvestre

#### 2.2.4.1 Taxonomía

El árbol de Moringa Oleifera es de una especie tropical originario del norte de la India generalmente hallado en colinas y orillas de ríos (98). Pertenece al reino *Plantae*, en la división *Magnoliophyta*, en la clase *Eudicotyledoneae*, de la subclase *Rosidae*, del orden *Brassicales*, de la familia *Moringaceae* y del género de los *Moringas* (91).

#### 2.2.4.2 Antecedentes Históricos

Los primeros escritos sobre Moringa Oleifera son del uso que

le daba la realeza para cuidar la piel y como relajante mental los cuales datan a 150 años A.C. donde ya se le daba un valor medicinal. Del mismo modo en la India sus escritores hablaron sobre su propiedad purificante del Mar Rojo. Ya en siglo XIX en Europa, el aceite de Moringa Oleifera era útil para la fabricación de ungüentos aromáticos e incluso lubricante industrial. Esta planta fue traída a Latinoamérica y América Central desde 1920 como un árbol estético (92).

#### **2.2.4.3 Demografía**

Planta nativa de India norte, Pakistán e Himalaya sur, para luego extenderse por Afganistán, Asia occidental, sureste de Asia, Madagascar, sur de Florida, Islas Caribe, Sudamérica; iniciando México llegando a Perú, también Paraguay y hasta Brasil (93).

#### **2.2.4.4 Cultivo**

Se desarrolla en áreas tropicales y subtropicales de 500 a 2000 msnm en suelo arenoso y arcilloso, tolerando y adaptándose a sequías mínimas de 200mm precipitaciones al año, aunque su desarrollo es limitado en ausencia del agua (94). La temperie adecuada para su germinación es de 25 a 35 °C con luz del sol directo en tierra acida o alcalina con un pH de 5.0 a 9.0 (95). Su propagación es por tallo y semilla, aunque este último no es muy recomendado por la variación genética sustancial (96).

#### **2.2.4.5 Descripción Botánica**

Vegetación tropical de color verde que puede alcanzar los 10 metros en su vida adulta; su raíz es gruesa y tuberosa con el tallo recto con una corteza gris blanquecina, sus ramas son colgantes y caídas de 30 a 60 cm de largo, las hojas de color verde claro pinnadas con folios ovalados opuestos de 1,3 a 2 cm de largo con

0.3 a 0.6 de ancho, las flores son de color crema, olorosas y cigomorfas con cinco pétalos y cinco estambres con frutos de vaina larga y leñosa con frutos en forma de vaina encapsulada de color pardo, con un pH entre 6.0 y 8.0 (97).

#### **2.2.4.6 Componentes Bioactivos**

- **Nutricional:** En muchas partes del mundo se consumen como alimento; el fruto fresco, la semilla, las hojas las cuales cuentan con el 27% de proteínas, y un alto porcentaje de minerales como; el hierro, calcio y fósforo, vitamina C (Anexo 2) (98) por debajo de las naranjas y una gran fuente de vitamina A (99,100) así como fibras, carbohidratos, aminoácidos, carotenoides con potencial de provitamina A (101) y tocoferoles (Anexo 3, Anexo 4), e incluso el tallo usado como condimento (102). Las semillas procesadas también son usadas como aceite comestible siendo el más abundante el ácido palmítico (Anexo 5) (103). La Moringa oleifera ha sido recomendada por las Naciones Unidas como complemento de la dieta humana.
- **Químico:**
- **Polifenoles:** Sus hojas enriquecidas en ácidos fenólicos y flavonoides. Está demostrado que los flavonoides brindan protección contra las enfermedades cardiovasculares y el cáncer (104), entre las cuales se encuentran la miricitina, quercetina (antioxidante y antidiabético en ratas Zucker obesas con síndrome metabólico (105) y kaempferol (106,107). Los ácidos fenólicos provienen del ácido hidroxicinámico y ácido hidroxibenzoico, con propiedades, antiinflamatorias, antimutagénicas anticancerígenas (108). y antioxidantes sobre radical libre y toxinas (109).
- **Alcaloides, glucosinolatos e isotiocianato:** Los alcaloides

como  $\alpha$ -L-rhamnopiranosil vincosamida, fenilacetoniitrilo pirrolmarumina, 4'-hidroxifeniletanoamida- $\alpha$ -L-ramnopiranosido han sido encontrados en esta planta (110,111). Los glucosinolatos son metabolitos secundarios en las plantas como el 4,0-bencilglucocinolato (glucomoringa) que es mayor en semillas, hojas y tallo (112).

- **Taninos:** compuestos fenoles solubles en el agua que están en mayor porcentaje en hojas liofilizadas y presentan propiedades anticancerígenas, antiescleróticas, antiinflamatorias y antihepatóxicas (112, 113).
- **Saponinas:** compuestos naturales derivada de los isoterpenos con propiedades anticancerígenas (114).
- **Uso Antibacteriano:** Los metabolitos como; glucosinolatos 4-( $\alpha$ -L-ramnopiranosiloxi)-bencilglucosinolato; isocianatos, como la pterigospermina, (4- ( $\alpha$ -Lramnosiloxi) – bencil; isotiocianato, como 1 [4 (4'-0- isotiocianato de acetil- $\alpha$ -L-ramnosiloxi) -bencilo], son compuestos químicos las cuales le atribuyen el efecto antibacteriano de la *Moringa oleifera* (115).

### 2.3 Definición de Términos Básicos

- **Moringa oleifera:**

Especia de plantas de la familia Moringaceae, orden Capparales, subclase Dilleniidae. Fuente de niaziminina y glucosidos de tiocarbamato hipotensores.

- **Enterococcus Faecalis:**

Especie de bacteria cocoide gram positiva comúnmente aislados de especímenes clínicos e intestino humano. Generalmente las cepas no son hemolíticas.

- **Resistencia bacteriana:**

La capacidad bacteriana para resistir o volverse tolerantes a varios fármacos estructural y funcionalmente distintos. La resistencia puede adquirirse mediante mutación genética o ADN extraño en plásmidos transmisibles.

- **Antibacteriano:**

Substancias capaces de inhibir el crecimiento o reproducción de las bacterias.

- **Endodoncia:**

Especialidad en la odontología que atiende los tratamientos pulpares preocupándose por mantener un estado de salud adecuado en la cavidad pulpar.

- **Inanición:**

Resultado de la privación total o de la reducción drástica de la ingesta de alimentos y si se mantiene por un periodo suficientemente largo, deja severas secuelas fisiológicas y funcionales.

## **2.4 Formulación de Hipótesis**

### **2.4.1 Hipótesis de Investigación**

Existe eficacia antibacteriana en al menos uno de los grupos de estudio sobre el *Enterococcus faecalis*.

### **2.4.2 Ho: Hipótesis Nula**

No existe eficacia antibacteriana en los grupos de estudio sobre el *Enterococcus faecalis*.

### 2.4.3 Hipótesis específicas

**Hi:** Existe eficacia antibacteriana en el Hidróxido de calcio al 100% sobre el *Enterococcus faecalis*.

**Ho:** No existe eficacia antibacteriana en el Hidróxido de calcio al 100% sobre el *Enterococcus faecalis*.

**Hi:** Existe eficacia antibacteriana en la Moringa oleífera al 100% sobre el *Enterococcus faecalis*.

**Ho:** No existe eficacia antibacteriana en la Moringa oleífera al 100% sobre el *Enterococcus faecalis*.

**Hi:** Existe eficacia antibacteriana en la Moringa oleífera al 50% sobre el *Enterococcus faecalis*.

**Ho:** No existe eficacia antibacteriana en la Moringa oleífera al 50% sobre el *Enterococcus faecalis*.

**Hi:** Existe eficacia antibacteriana en la Moringa oleífera en comparación al Hidróxido de calcio sobre el *Enterococcus faecalis*.

**Ho:** No existe eficacia antibacteriana en la Moringa oleífera en comparación al Hidróxido de calcio sobre el *Enterococcus faecalis*.

## 2.5 Identificación de las variables

### 2.5.1 Variable Independiente

Pasta de Moringa oleífera

Pasta de CaoH

### 2.5.2 Variables Dependiente

Eficacia antibacteriana

## 2.6 Operacionalización de las variables

Variable Dependiente	Definición conceptual	Definición Operacional	Naturaleza de la variable	Forma de la variable	Escala de medición	Dimensión	Indicadores	Valores
<b>Efecto Antibacteriano</b>	Efecto que inhibe el crecimiento con posterior muerte bacteriana	Medición con Vernier digital de los halos inhibitorios obtenidos en placas Petri por técnica Kirby B.	Cuantitativa	Continua	De Razón	Formación del halo inhibitorio	Vernier Digital	mm
Variable Independiente	Definición conceptual	Definición Operacional	Naturaleza de la variable	Forma de la variable	Escala de medición	Dimensión	Indicadores	Valores
<b>Pasta de Moringa oleífera</b> <b>Pasta de CaoH</b>	Sustancia optima que genera la muerte de la Bacteria	Obtención de una pasta por mezcla polvo - liquido de principios activos	Cualitativa	Policotómica	Nominal	Medicaciones	Aplicación del principio activo	Moringa 100% Moringa 50% Hc2 100%

## CAPITULO III

### 3 MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1 Nivel y tipo de investigación

##### 3.1.1 Nivel

- **Explicativo:** Se refiere al efecto de una variable sobre otras; por ser estudios causales deben ser controlados y cumplir con otros criterios de aleatorización (116).

##### 3.1.2 Tipo

a) **Según el tiempo de ocurrencia de los hechos y registro de la información:**

- **Prospectivo:** porque las cifras de la investigación fueron tomadas a partir de la ejecución (116).

b) **Según el periodo y secuencia del estudio:**

- **Longitudinal:** porque los datos de la investigación fueron recogidos en tiempo distintos (116).

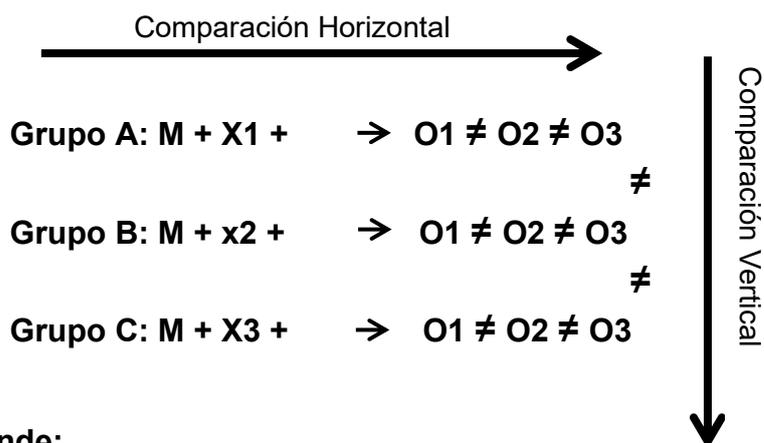
c) **Según el análisis y alcance de los resultados:**

**Cuasi experimental:** porque cumple con la asignación no fue aleatoria sino a conveniencia (116).

d) **Según la naturaleza de los datos**

**Cuantitativa:** porque los resultados fueron sustentados en medidas (116).

### 3.2 Diseño y Método de la Investigación: Cuasi experimental



- **Dónde:**

**M:** grupos (cultivo del *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212)

**X1:** Hidróxido de Calcio 100% (Grupo control)

**X2:** *Moringa oleifera* 100%

**X3:** *Moringa oleifera* 50%

**O1** = Observación en 24 horas

**O2** = Observación en 48 horas

**O3** = Observación en 72 horas

### 3.3 Determinación del Universo y Muestra

#### 3.3.1 Universo

Conformada por *Enterococcus faecalis* ATCC®29212 del laboratorio.

#### 3.3.2 Muestra

Antes de determinar el número de la muestra se usó una prueba piloto para encontrar el valor promedio y desviación estándar del grupo control y del grupo experimental, y posteriormente se aplicó la fórmula de determinación de medias mediante el software OpenEpi y se estableció la cantidad adecuada, los cuales fueron 60 muestras distribuidas en 20 cajas de Petri.

### **3.4 Unidad de análisis**

Halos de inhibición.

### **3.5 Unidad de observación**

Placas Petri con *Enterococcus faecalis* ATCC®29212.

### **3.6 Tipo de Muestreo**

Se aplicó el muestreo no probabilístico por conveniencia.

### **3.7 Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos**

#### **3.7.1 Técnica**

- Observacional

Se trata de la observación detallada y minuciosa de un fenómeno.

#### **3.7.2 Instrumento**

Ficha de observación (anexo 6). Para poder recoger los datos del laboratorio, ha sido elaborado un instrumento que nos dará la facultad de:

- Filiación de la cepa bacteriana.
- Registro de los 3 grupos de control positivo (Moringa oleífera 100% + suero fisiológico 0.9%, Moringa oleífera 50% + suero fisiológico).
- Registro del grupo de control negativo (Hidróxido de calcio 100%+ suero 0.9%).
- El tiempo en horas que se tomara los datos de los halos de inhibición.
- Número y cantidad de los halos de inhibición distribuidos según el grupo a la cual corresponda.

### 3.8 Técnicas de procesamiento

#### 3.8.1 Recolección del material

Se compraron cápsulas de las hojas micropulverizadas de *Moringa oleifera* de tres distintos laboratorios:

- Laboratorio Bionaturista con certificaciones internacionales de calidad de SQF QUALITY SUPPLIER (SQF), SYSTEM CERTIFICATION (HACCP) Y SYSTEM CERTIFICATION (GMP). (Figura 2)
- Laboratorio Fitosana con registro sanitario N7400917 – NALBFT DIGESA. (figura 3)
- Laboratorio Maravilla Sana con certificación con registro sanitario N7407116 N / NANTSL DIGESA. (figura 4)

#### 3.8.2 Marcha fotoquímica

Las hojas micro pulverizadas de *Moringa oleifera* fueron analizadas en el centro de Biotecnología molecular de la UNHEVAL, para la identificación y reconocimiento de los metabolitos secundarios presentes donde se eligió el “mejor” cualitativamente para el proyecto de investigación. Para lo cual se utilizó diversos reactivos. Se pesó 0.5 gr de las hojas micropulverizadas de cada laboratorio, en 100 ml de etanol 70<sup>a</sup> como solvente, almacenándolas posteriormente en tres diferentes matraces aforados cubiertos con papel kraft y papel aluminio, por un plazo de 10 días en maceración a temperatura ambiente, con agitaciones de tres veces por día. Cumplido el plazo se procedió a filtrar cada muestra a través del papel filtro y llevando posteriormente el concentrado a una estufa por 48 horas aproximadamente. Finalmente se inició con los análisis respectivos utilizando cada reactivo para el tipo de metabolito buscado. (Anexo

16). (Figura N5, 6, 7, 8, 9, 10, N°11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24).

### 3.8.2.1 Tamizaje Fotoquímico

- 1. Alcaloides: Reactivo de Dragendorff:** En 10 gotas del concentrado se añadieron unas 5 gotas más de ácido clorhídrico (10%) y 3 gotas más de la solución Dragendorff dando como resultado una coloración naranja o rojo (Figura 25,26, 27 y 28).
- 2. Flavonoides: Reactivo de Shinoda:** En 1 mililitro de concentrado se añadió limaduras de magnesio más 3 gotas del ácido clorhídrico concentrado. Se observaron burbujes debido a la reacción de la solución con la limadura, donde en un primer momento se tornó anaranjado claro que conforme fue reaccionando el color naranja se intensificó, lo que indico la presencia de flavonoides (Figura 29, 30, 31 y 32).
- 3. Compuestos fenólicos: Reactivo de Tricloruro Férrico:** En 10 gotas del concentrado se añadieron 3 gotas Tricloruro Férrico dando como resultado positivo una coloración verde a azul (Figura 33, 34, 35 y 36).
- 4. Esteroides y/o triterpenoides: Reactivo de Burchard:** Se contó 10 gotas del concentrado y se añadieron 10 gotas del reactivo de Burchard, resultando una coloración rosada a púrpura para triterpenoidales y una coloración azul o verdosa para esteroidales (Figura 37,38).
- 5. Taninos: Reactivo de Gelatina en cloruro de sodio:** En 1 mililitro del concentrado se añadieron 3 gotas de gelatina con cloruro de sodio, en un inicio se formó un vapor nuboso, posteriormente se centrifugo y se visibilizo un precipitado blanco. Indicando de ese modo la presencia de taninos (Figura 39, 40, 41 y 42).

- 6. Flavonoides: Hidróxido de sodio 20%:** En 1 mililitro del concentrado se le añadieron 5 gotas de hidróxido de sodio al 20%, en cuanto a la decoloración fue ligeramente despacio de morado o violeta, a azul, a verde y finalmente amarillo indicando fenolatos alcalinos, pero una palidez a amarillo es para el caso de betacianinas (Figura 43, 44, 45y 46).
- 7. Fenoles: Cloruro Férrico:** En 1 mililitro del concentrado se le añadió cloruro férrico en una cantidad de 2 gotas, donde reaccionó con una coloración negra ligeramente azulada que indicó la existencia para taninos, pero si la coloración sería verde indicaría que deriva de la catequina (Figura 47, 48).
- 8. Alcaloides: Reactivo de Wagner:** En 1 mililitro del concentrado se le añadió el reactivo de Wagner en una cantidad 10 gotas, indicando positivo con una coloración marrón (Figura 49, 50, 51 y 52).
- 9. Esteroides y/o triterpenoides: Cloroformo + Anhidro acético+ Ácido sulfúrico:** Se tomó 10 gotas del concentrado y se trasladó a desecación en baño maría para luego se adicionó 10 gotas de cloroformo y 3 gotas de anhídrido acético para finalmente el ácido sulfúrico concentrado en 3 gotas y lentamente pegado a la pared del tubo, sin agitaciones, entonces se observó una tinción verde a azul que indico positivo la reacción (Figura 53, 54).

### 3.9 Resultados de la marcha fotoquímica (anexo 7)

GRUPO 1: Marca: <b>Bionaturista</b>			
REACTIVO	CONSTITUYENTE FITOQUÍMICO	REACCIÓN POSITIVA	RESULTADOS
Dragendorff	Alcaloides	rojo o naranja	-
Shinoda	Flavonoides	Naranja o amarillo	+++
Tricloruro Férrico	Compuestos fenólicos	Azul, verde o negro	+++
Burchard	Esteroides y/o triterpenoides	Azul o verdoso	++
Gelatina en cloruro de sodio	Taninos	Precipitado blanco	-
Hidróxido de sodio 20%	Flavonoides	Amarillo	++
Cloruro Férrico	Fenoles	Negro, azul	+++
Wagner	Alcaloides	Marrón	+
Cloroformo + Anhidro acético+ Ácido sulfúrico	Esteroides y/o triterpenoides	Verde, azul	+

GRUPO 2: Marca: <b>Fitosana</b>			
REACTIVO	CONSTITUYENTE FITOQUÍMICO	REACCIÓN POSITIVA	RESULTADOS
Dragendorff	Alcaloides	rojo o naranja	-
Shinoda	Flavonoides	Naranja o amarillo	+++
Tricloruro Férrico	Compuestos fenólicos	Azul, verde o negro	+++
Burchard	Esteroides y/o triterpenoides	Azul o verdoso	++
Gelatina en cloruro de sodio	Taninos	Precipitado blanco	-
Hidróxido de sodio 20%	Flavonoides	Amarillo	+++
Cloruro Férrico	Fenoles	Negro, azul	+++
Wagner	Alcaloides	Marrón	++
Cloroformo + Anhidro acético+ Ácido sulfúrico	Esteroides y/o triterpenoides	Verde, azul	++

GRUPO 3: Marca: <b>Maravilla Sana</b>			
REACTIVO	CONSTITUYENTE FITOQUÍMICO	REACCIÓN POSITIVA	RESULTADOS
Dragendorff	Alcaloides	rojo o naranja	-
Shinoda	Flavonoides	Naranja o amarillo	+
Tricloruro Férrico	Compuestos fenólicos	Azul, verde o negro	+++
Burchard	Esteroides y/o triterpenoides	Azul o verdoso	++
Gelatina en cloruro de sodio	Taninos	Precipitado blanco	-
Hidróxido de sodio 20%	Flavonoides	Amarillo	++
Cloruro Férrico	Fenoles	Negro, azul	+++
Wagner	Alcaloides	Marrón	++
Cloroformo + Anhidro acético+ Ácido sulfúrico	Esteroides y/o triterpenoides	Verde, azul	++

medida singular de cada halo (milímetros) formados alrededor de cada uno de los pocillos inoculados con cada una de los de prueba en las placas con cultivo. Después de leerlos, fueron incubadas el total de las pacas. Prosiguiendo en un periodo de 48 y luego de 72 horas se procedió a tomar referencia a su lectura, guiándose según el objetivo a investigar del proyecto de conocer los halos inhibitorios de las sustancias de prueba de pasta de moringa al 100%, pasta de moringa al 50% y pasta de hidróxido de calcio al 100% en los tres periodos de incubación señalados.

### 3.9.1 Técnica de procesamiento de análisis de datos

El procesamiento estadístico se realizó empleando el paquete estadístico de la 26<sup>o</sup> versión del SPSS. El cual nos permitió establecer la estadística descriptiva a partir de los datos de tendencia central y dispersión, además de valores máximo y mínimos por grupos. Adicionalmente se realizó el análisis de estadística inferencial a partir de la prueba de normalidad de los datos, con lo cual podemos optar por una prueba estadística que por la disposición de nuestros grupos

de estudio y basándose en el supuesto de normalidad y homocedasticidad de varianza se optó por el análisis de varianza ANOVA de grupos pareados y un test Post Hoc de Tuckey para determinar la diferencia estadísticamente significativa.

## CAPÍTULO IV

### 4 PROCESAMIENTO DE DATOS

Se realizó pruebas estadísticas descriptivas (Microsoft Excel 2016) para conocer las características de los grupos de resultados. Luego, se realizó la estadística inferencial (SPSS, V26), la cual se comenzó por el análisis de normalidad por Shapiro Wilk para definir el empleo de estadísticas paramétricas o no paramétricas. Posteriormente, se ejecutó la prueba de Análisis de Varianza de un factor (ANOVA) y prueba post hoc de Tukey para conocer si entre los resultados de las pastas de prueba hay diferencias significativas con respecto a su eficacia antibacteriana frente a *Enterococcus faecalis*.

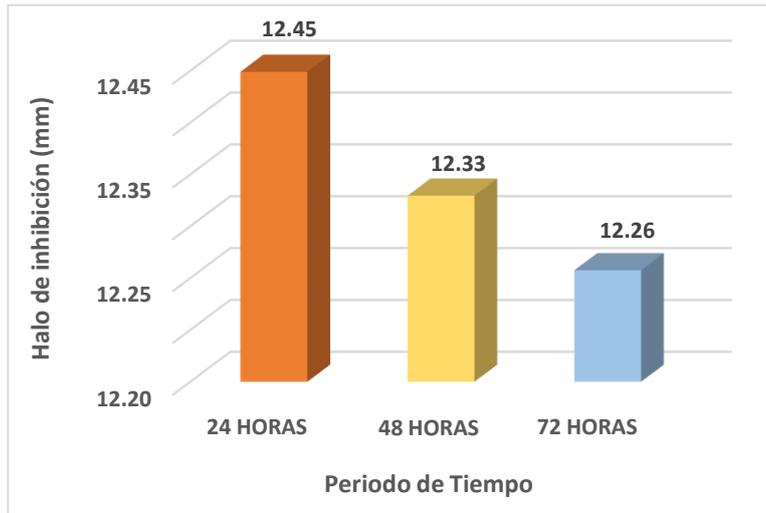
El objetivo principal del análisis estadístico fue observar si las pastas de *Moringa oleifera* presentan o no, efectividad antibacteriana en frente de *Enterococcus faecalis*.

#### 4.1 Resultados estadísticos descriptivos

**Tabla 1.** Efectividad antibacteriana de la pasta de moringa al 100% sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Periodo de Tiempo	Pasta de moringa al 100			
	X (mm)	DS	Mi n	Máx.
24 horas	12,45	0,908	10,63	14,35
48 horas	12,33	0,919	10,44	14,31
72 horas	12,26	0,928	10,35	14,26

En la tabla 1, se llega a observar que la pasta de moringa al 100% obtuvo  $12,45 \pm 0,908$  milímetros de halo inhibitorio en 24 horas. Asimismo, obtuvo  $12,33 \pm 0,919$  mm de halo de inhibición a las 48 horas. Finalmente,  $12,26 \pm 0,928$  milímetros de halo inhibitorio en 72 horas.



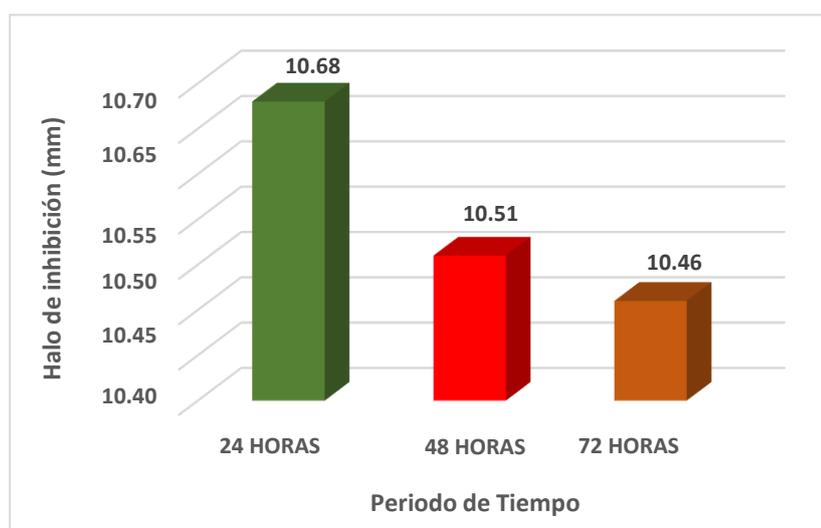
**Gráfico 1.** Efectividad antibacteriana de la pasta de moringa al 100% sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

En el gráfico 1 se observa los promedios de halos de inhibición que se obtuvo a las 24, 48 y 72 horas.

**Tabla 2.** Efectividad antibacteriana de la pasta de moringa al 50% sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

Periodo de Tiempo	Pasta de moringa al 50%			
	X (mm)	DS	Min	Máx.
24 horas	10.68	0.995	8.70	12.53
48 horas	10.51	0.980	8.64	12.50
72 horas	10.46	0.979	8.58	12.48

En la tabla 2, se llega a observar que la pasta de moringa al 50% obtuvo  $10,68 \pm 0,995$  mm de halo de inhibición a las 24 horas. Asimismo, obtuvo  $10,51 \pm 0,980$  mm de halo de inhibición a las 48 horas. Finalmente,  $10,46 \pm 0,979$  mm de halo de inhibición a las 72 horas.



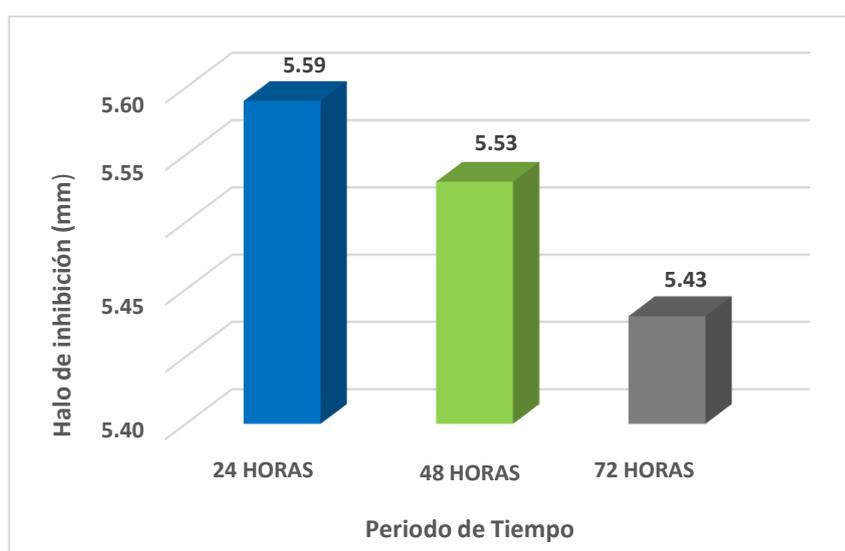
**Gráfico 2.** Efectividad antibacteriana de la pasta de moringa al 50% sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

En el gráfico 2 se observa los promedios de halos de inhibición que se obtuvo a las 24, 48 y 72 horas.

**Tabla 3.** Efectividad antibacteriana de la pasta de hidróxido de calcio al 100% sobre *Enterococcus faecalis*

Periodo de Tiempo	Pasta de hidróxido de calcio al 100%			
	X (mm)	DS	Min	Máx.
24 horas	5.59	0.716	4.45	7.08
48 horas	5.53	0.713	4.39	7.00
72 horas	5.43	0.699	4.36	6.94

En la tabla 3, se llega a observar que pasta de hidróxido de calcio al 100% obtuvo  $5,59 \pm 0,716$  mm de halo de inhibición a las 24 horas. Asimismo, obtuvo  $5,53 \pm 0,713$  mm de halo de inhibición a las 48 horas. Finalmente,  $5,43 \pm 0,699$  mm de halo de inhibición a las 72 horas.



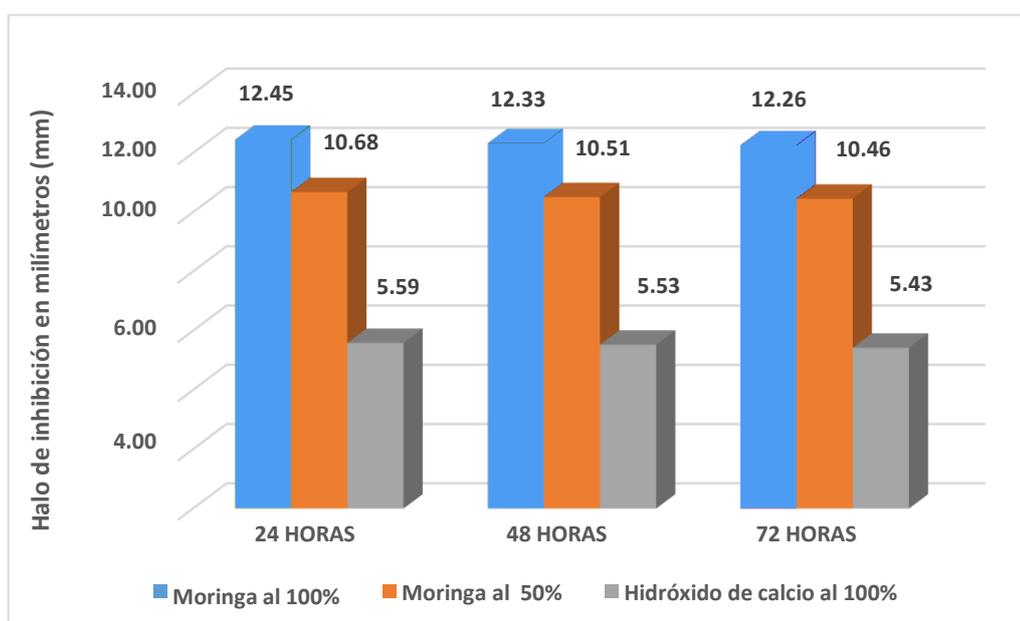
**Gráfico 3.** Efectividad antibacteriana de la pasta de hidróxido de calcio al 100% sobre *Enterococcus faecalis*

En el gráfico 3 se observa los promedios de halos de inhibición que se obtuvo a las 24, 48 y 72 horas.

**Tabla 4.** Distribución de los grupos de estudio experimental y control de ensayo in vitro a las 24, 48 y 72 horas

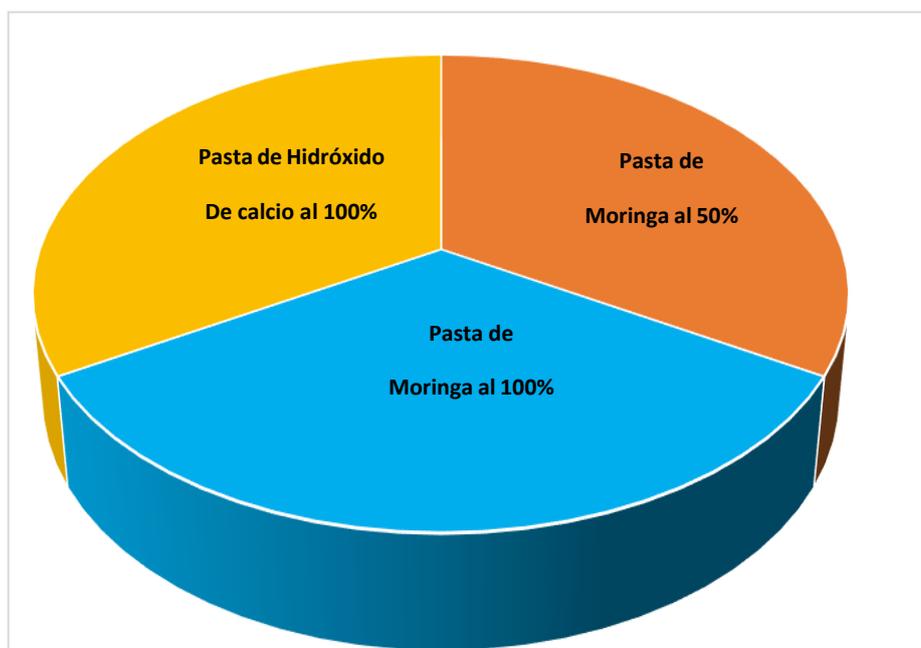
Grupo de estudio	Frecuencia			Porcentaje
	24 horas	48 horas	72 horas	
Grupo experimental A: Pasta de moringa al 50%	20	20	20	33.33%
Grupo experimental B: Pasta de moringa al 100%	20	20	20	33.33%
Control de ensayo: Pasta de Hidróxido de calcio al 100%	20	20	20	33.33%
<b>Total</b>	<b>60</b>	<b>60</b>	<b>60</b>	<b>100%</b>

Según tabla 4 los grupos de estudio y el grupo control tienen la misma cantidad de datos a las 24, 48 y 72 horas. Por lo tanto, cada grupo de datos aporta un 33.33% de información al presente estudio por periodo de tiempo.



**Gráfico 4.** Medias de halos de inhibición de las pastas de moringa al 50% y 100% y el grupo control de la pasta de hidróxido de calcio al 100% frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en milímetros (mm) a las 24, 48 y 72 horas en agar Mueller Hinton

Según **gráfico 4**, observamos que la pasta de moringa al 100% ha tenido en promedio mayor de halo inhibitorio frente al *Enterococcus faecalis* ATCC®29212 a las 24, 48 y 72 horas, Por otro lado, el control de ensayo, la pasta de hidróxido de calcio al 100%, ha tenido en promedio el menor halo de inhibición en los tres periodos de tiempo estudiados.



**Gráfico 5**, Distribución de los grupos de estudio experimental y control de ensayo in vitro a las 24, 48 y 72 horas

Según el gráfico 5 los grupos de estudio y el grupo control tienen la misma cantidad de datos a las 24, 48 y 72 horas. Por lo tanto, cada grupo de datos aporta un 33.33% de información al presente estudio por periodo de tiempo.

**4.2 Presentación de los resultados de ensayo microbiológico:  
antibiograma (anexo 12)**

PROCEDIMIENTO DE MUESTREO :	No aplica
IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA :	M1: Pasta de Moringa al 50% M2: Pasta de Moringa al 50% M3: Pasta de Hidróxido de calcio al 100%
CANTIDAD Y DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA :	M1: Un (01) frasco de 11g M2: Un (01) frasco de 11g M3: Un (01) frasco de 11g

**RESULTADOS DE ENSAYO MICROBIOLÓGICO: ANTIBIOGRAMA**

N° Replica en placa Petri	Halo de inhibición de las sustancias de prueba frente a <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 en milímetros (mm) a las 24 horas en agar Mueller Hinton		
	M1: Pasta de Moringa al 100%	M2: Pasta de Moringa al 50%	M3: Pasta de Hidróxido de calcio al 100%
1	12,30	10,10	4,61
2	13,14	12,11	5,81
3	13,41	10,33	4,95
4	12,52	10,62	6,35
5	11,50	10,14	6,51
6	13,08	11,35	5,08
7	10,63	9,05	4,45
8	12,20	10,81	5,85
9	11,51	8,70	5,19
10	12,72	11,14	5,92
11	14,35	11,67	5,35
12	12,69	9,55	5,26
13	13,07	10,14	6,39
14	12,89	12,53	5,65
15	11,41	10,40	5,21
16	13,66	10,82	6,19
17	11,57	11,68	6,10
18	11,44	11,85	4,52
19	12,39	10,21	5,36
20	12,50	10,35	7,08

N° Replica en placa Petri	Halo de inhibición de las sustancias de prueba frente a <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 en milímetros (mm) a las 48 horas en agar Mueller Hinton		
	M1: Pasta de Moringa al 100%	M2: Pasta de Moringa al 50%	M3: Pasta de Hidróxido de calcio al 100%
1	12,17	10,08	4,56
2	13,08	11,95	5,70
3	13,28	10,12	4,87
4	12,48	10,48	6,24
5	11,46	10,00	6,40
6	13,03	11,24	5,00
7	10,44	9,01	4,39
8	12,15	10,53	5,79
9	11,37	8,64	5,11
10	12,54	10,96	5,80
11	14,31	11,44	5,26
12	12,47	9,38	5,19
13	13,03	10,05	6,30
14	12,71	12,50	5,52
15	11,34	10,12	5,14
16	13,45	10,58	6,11
17	11,36	11,47	5,95
18	11,35	11,63	4,43
19	12,23	9,97	5,28
20	12,34	10,11	7,00

N° Replica en placa Petri	Halo de inhibición de las sustancias de prueba frente a <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 en milímetros (mm) a las 72 horas en agar Mueller Hinton		
	M1: Pasta de Moringa al 100%	M2: Pasta de Moringa al 50%	M3: Pasta de Hidróxido de calcio al 100%
1	12,11	10,04	4,52
2	13,04	11,86	5,64
3	13,22	10,08	4,82
4	12,44	10,46	6,17
5	11,43	9,95	6,30
6	12,99	11,15	4,93
7	10,35	8,99	4,36
8	12,11	10,49	5,74
9	11,23	8,58	5,04
10	12,50	10,91	5,73
11	14,26	11,35	5,19
12	12,35	9,31	5,10
13	12,99	10,02	6,21
14	12,56	12,48	5,46
15	11,28	10,12	5,05
16	13,38	10,49	6,08
17	11,27	11,47	5,86
18	11,29	11,58	4,37
19	12,14	9,89	5,17
20	12,21	10,04	6,94

<b>MÉTODOS DE ENSAYO</b>	
<b>ENSAYOS</b>	<b>REFERENCIA</b>
ANTIBIOGRAMA	SQ-100. TÉCNICA DE DIFUSIÓN EN AGAR EN PLACAS. (4)

**OBSERVACIONES:**

- (1) Las muestras recibidas por el laboratorio serán utilizadas tal y como llegaron
- (2) Las pastas de Moringa al 50% y 100% se realizó a partir del producto Moringa oleífera en cápsulas. Marca "FITOSANA". Lote: 200971 F.V. 09/07/2023.
- (3) La pasta - hidróxido de calcio 100% fue preparada a partir del producto Hidróxido de calcio. Marca "PREVEST DENPRO". Lote: PK21222196.
- (4) Basado en artículo de Escalante M. (2016) Sensibilidad de *Listeria monocytogenes* y *Listeria ivanovii* frente al aceite esencial de *Cocos nucifera*. REBIOL. 36(1): 38 – 44. Enero – Junio

SQ-100. TÉCNICA DE DIFUSIÓN EN AGAR EN PLACAS. (4)

## 1. ANÁLISIS DE NORMALIDAD DE RESULTADOS

Se realiza para determinar qué análisis estadístico (paramétrico o no paramétrico) usar en los objetivos de la investigación.

**Tabla 5.** Análisis de Normalidad por Shapiro Wilk ( $n < 50$ ) de las pastas de prueba frente

Sustancia de prueba	Valor p		
	24 hora s	48 hor as	72 hora s
Pasta de moringa al 100%	0,875	0,776	0,805
Pasta de moringa al 50%	0,874	0,756	0,824
Pasta de hidróxido de calcio al 100%	0,832	0,841	0,717

Nivel de significancia ( $\alpha = 0,05$ )

De la **tabla 5**, se infiere que el conjunto de resultados de las diferencias de los halos de inhibición de las pastas de prueba a las 24, 48 y 72 horas de incubación frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 nos muestra un grupo con distribución normal para la pasta de moringa al 100% ( $p > 0.05$ ), la pasta de moringa al 50% ( $p > 0.05$ ) y pasta de hidróxido de calcio al 100%, ( $p > 0.05$ ). Entonces se llega a la conclusión que los grupos presentan datos con distribución normal, por el cual se recomienda utilizar estadística paramétrica para analizar los resultados como las pruebas de ANOVA y prueba post hoc de Tukey.

## 2. ANÁLISIS DE VARIANZA DE UN FACTOR (ANOVA) Y PRUEBA POST HOC DE TUKEY

Se utilizó esta prueba para evaluar la existencia de diferencias significativas entre los grupos de pastas de prueba en estudio en el mismo periodo de tiempo.

**Tabla 6.** Media y desviación estándar de los halos de inhibición (mm) de pastas de prueba en estudio frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

Periodo de Tiempo	X (mm) ± DS			Valor p	
	Pasta de moringa 100%	Pasta de moringa 50%	Pasta de Hidróxido de calcio 100%	ANOVA	TUKEY Y (*)
24 horas	12,45 ± 0,908	10.68 ± 0,995	5.59 ± 0,716		<0.01
48 horas	12,33 ± 0,919	10.51 ± 0,980	5.53 ± 0,713	<0.01	<0.01
72 horas	12,26 ± 0,928	10.46 ± 0,979	5.43 ± 0,699		<0.01

(\*) Comparaciones múltiples

Según la tabla 6, se puede observar que existen diferencias significativas entre las lecturas de pasta de moringa al 100%, pasta de moringa al 50%, y pasta de hidróxido de calcio al 100% ( $p < 0,01$ ) para los tres tiempos de estudio, lo cual queda demostrado por la prueba ANOVA ( $p < 0,01$ ) y prueba post hoc de Tukey ( $p < 0,01$ ).

## COMPROBACIÓN DE OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN

- **Objetivo General**

1. **Determinar la actividad antibacteriana de la pasta de *Moringa oleifera* sobre el *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. (Estudio *in vitro*). Huánuco 2022.**

**CONCLUSIÓN:** Según gráfico 1 y gráfico 2, se puede observar que los promedios de las pastas de moringa al 100% y la pasta de moringa al 50% son diferentes de cero en los tres tiempos de estudio. Por lo cual, se comprueba el efecto inhibitorio de los estas pastas de prueba a base moringafrente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

- **Objetivos Específicos**

1. **Determinar el efecto antibacteriano del hidróxido de Calcio al 100% en 24 horas, 48 horas y alas 72 horas sobre el *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. (Estudio *in vitro*). Huánuco 2022.**

**CONCLUSIÓN:** Según gráfico 3 y tabla 3, se puede observar que los promedios de pasta de hidróxido de calcio al 100% a las 24 (5,59 mm), 48 (5,53 mm), y 72 horas (5,43 mm), son diferentes de cero. Por lo cual, se comprueba el efecto inhibitorio de la pasta de hidróxido de calcio al 100% frente a *Enterococcus faecalis*.

2. **Determinar el efecto antibacteriano de la *Moringa oleifera* al 100% en 24 horas, 48 horas y alas 72 horas sobre el *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. (Estudio *in vitro*). Huánuco 2022.**

**CONCLUSIÓN:** Según gráfico 1 y tabla 1, se puede observar que los promedios de la pasta de *Moringa oleifera* al 100% a las 24 (12,45 mm), 48 (12,33 mm), y 72 horas (12,26 mm), son diferentesde cero. Por lo cual, se comprueba el efecto inhibitorio de pasta de *Moringa oleifera* al 100% en frente a *Enterococcus faecalis* ATCC®29212.

3. **Determinar el efecto antibacteriano de la *Moringa oleifera* al 50% en 24 horas, 48 horas y alas 72 horas sobre el *Enterococcus***

***faecalis* ATCC 29212. (Estudio *in vitro*). Huánuco 2022.**

## **CONCLUSIÓN**

Según gráfico 2 y tabla 2, se puede observar que los promedios de la pasta de *Moringa oleifera* al 50% a las 24 (10,68 mm), 48 (10,51 mm), y 72 horas (10,46 mm), son diferentes de cero. Por lo cual, se comprueba el efecto inhibitorio de la pasta de *Moringa oleifera* al 50% frente a *Enterococcus faecalis* ATCC®29212.

**4. Determinar el efecto antibacteriano de la Moringa Oleífera en comparación al hidróxido de calcio al 100% en 24 horas, 48 horas y a las 72 horas sobre el *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. (Estudio *in vitro*). Huánuco 2022.**

## **CONCLUSIÓN**

En base a los resultados estadísticos descriptivos y el análisis inferencial realizado en este estudio, se puede concluir que la pasta de moringa oleífera al 100% presenta efecto antibacteriano significativo contra *Enterococcus faecalis* en comparación con la pasta de Hidróxido de calcio al 99%. Además, el análisis de la varianza (Anova) con el método Post Hoc de Tukey indicó que hay una diferencia estadísticamente expresiva en efectos de las pastas de prueba ( $p > 0.01$ ).

## CAPITULO V

### 5 DISCUSIÓN

En nuestro estudio se analizó la eficacia antibacteriana de la Moringa Oleífera en concentraciones del 50% y 100% y el grupo control de hidróxido de calcio al 100%, esta pasta de Moringa aplicado sobre el *Enterococcus faecalis* ATCC®29212 in vitro, para comprobar, medir y dar una futura alternativa de tratamiento para las infecciones radiculares, donde se pueden encontrar muchas colonizaciones bacterianas que habitan a nivel radicular y periapical, muchos de estos biomas colonizadores dan origen patogénico a la pieza dentaria, infectándola y provocando signos y síntomas que pueden conllevar desde la perdida dentaria hasta una sepsis posteriormente. Satisfaciendo así uno de los objetivos que se quiere llevar a cabo con este proyecto, que es dar una alternativa de solución para la eliminación bacteriana, específicamente ante una cepa tan resistente como es el *Enterococcus faecalis* ATCC®29212, mediante la aplicación de pasta de la moringa oleífera según concentraciones y tiempo de exposición (al 50% y al 100%, a las 24 horas, 48 horas y 72 horas).

Cómo pueden los hallazgos de esta tesis contribuir al avance del conocimiento en la odontología, la respuesta está en los resultados que se evidencia en donde se responde al objetivo demostrando el efecto antibacteriano de la moringa oleífera al 100% sobre el *Enterococcus faecalis* ATCC®29212 a las 24 horas dando un halo inhibitorio de 12,45 mm, a las 48 horas da un halo inhibitorio de 12,33 mm, a las 72 horas da un halo inhibitorio de 12,26 mm demostrando su mayor grado de efectividad frente a las concentraciones de moringa oleífera al 50%, siendo los resultados a las 24 horas un 10,68mm de halo inhibitorio, a las 48 horas un 10,51mm de halo inhibitorio, a las 72 horas un 10, 46 mm de halo inhibitorio, de igual modo dando unos resultados bajos de efectividad antibacteriana según inhibición de halos, el hidróxido de calcio al 100%, arrojando resultados a las 24 horas 5,59 mm de halo inhibitorio, a las 48 horas un 5,53mm de halo inhibitorio y a las 72 horas un 5,43 mm de halo inhibitorio, estos resultados responden positivamente a la gran eficacia que tiene la moringa oleífera al 100 % en

contraste con el hidróxido de calcio en concentraciones del 100%, ya que se esperaba la eficacia antibacteriana de al menos una de las concentraciones de moringa oleífera.

Comparando los resultados de eficacia de la Moringa Oleífera al 100% frente al considerado grupo control de hidróxido de calcio al 100%, dio como resultado una discrepancia de aproximadamente el 50% menos eficaz que la Moringa oleífera, lo cual no era de esperarse gran discrepancia.

Nuestro resultado obtuvo un mayor grado de eficacia de la Moringa Oleífera al 100 % con un halo inhibitorio de 12,45 mm a las 24 horas en comparación con el antecedente de los estudios de **Muhammad S. (39)** que obtuvo un halo inhibitorio de 9,76 mm a las 24 horas y, presentando cierto grado de similitud con nuestro resultado de Moringa al 50% a las 72 horas, donde obtuvimos un halo inhibitorio de 10,46 mm, con el método de hojas micropulverizadas (pasta) de Moringa oleífera. Por otro lado el antecedente de los estudios de **Hijar A. (43)** obtuvo un mayor grado de halo inhibitorio en comparación al nuestro, siendo de 44,83 mm a las 48 horas sobre el *Enterococcus faecalis*, quien aplicó el método por extracto etanólico, así como también el antecedente de los estudios de **Ríos A. (41)** que obtuvo un halo inhibitorio de 33,5 mm sobre el *Enterococcus faecalis*, quien también aplicó el método por extracto de etanol. Comparando los estudios de nuestros autores, llegamos a la conclusión que **Muhammad S. (39)** obtuvo su mayor nivel de eficacia antibacteriana con un halo de 9,76 mm a las 24 horas, mientras que **Hijar A. (43)** obtuvo su mayor nivel de eficacia antibacteriana con un halo de 44,83 mm a las 48 horas, al igual que el estudio de **Ríos A. (43)** quien obtuvo un halo de 33,5 mm, todas en extracto etanólico, donde podemos inferir que probablemente la diferencia en los resultados se deba al tipo de procesamiento del principio activo de los antecedentes en discusión, que es el extracto de etanol de Moringa oleífera frente a las bacterias aisladas de *Enterococcus faecalis*.

En el tamizaje o marcha fotoquímica de la hoja micro pulverizada de moringa oleífera se confirmó cualitativamente la presencia de componentes como los flavonoides, taninos, alcaloides, saponinas, fenoles, glucosinolatos

e isocianatos, a los cuales se les atribuye la responsabilidad de su actividad antibacteriana, resultado que concuerda con los estudios de **Ríos A. (41)** que menciona que los compuestos de *Moringa oleifera*, resaltando a los flavonoides, fenoles, isocianatos y glucosinolatos quienes son de mayor significancia en la inhibición del crecimiento bacteriano. Por otro lado en el antecedente local del estudio de **Ñaupá Y. (44)** menciona haber utilizado un extracto hidroalcohólico y aceite esencial de *Zingiber officinale* al 15% sobre la misma bacteria, el *Enterococcus faecalis*; obteniendo como resultado en tiempo estimado de exposición de 24 horas, 48 horas y 72 horas, con un halo promedio de inhibición de 7.78 mm para el extracto hidroalcohólico de *Zingiber officinale* y con ausencia de halos para el aceite esencial de *Zingiber officinale*. Mientras que en nuestro estudio se obtuvo un promedio de halo de 12.34 mm para la *Moringa oleifera* al 100% en 24 horas, 48 horas y 72 horas. Es así que comparando ambos estudios podemos resaltar que el efecto antibacteriano de la hoja micropulverizada de *Moringa oleifera* es mayor que el extracto hidroalcohólico de *Zingiber officinale* aplicado sobre la bacteria *Enterococcus faecalis*.

Realizada la inferencia estadística, podemos concluir entonces que, en nuestro estudio existe la eficacia antibacteriana de la *Moringa Oleífera* sobre el *Enterococcus faecalis* ATCC®29212, que está condicionada por el método de extracción de la hoja que se utiliza, el porcentaje de concentración y el tiempo de exposición al bioma.

## CONCLUSIONES

En este proyecto se obtuvo como resultado que la propiedad antibacteriana de la moringa oleífera responde como existente a las cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC®29212, resultando eficaz, con un alto grado de inhibición en al menos una de sus concentraciones, la cual es al 100%, esto responde como un efecto positivo en este estudio in vitro.

En base a los resultados estadísticos descriptivos y el análisis inferencial realizado en la presente investigación, podemos concluir que la pasta de moringa oleífera tiene un efecto antibacteriano significativo contra *Enterococcus faecalis* en comparación con la pasta de hidróxido de calcio al 100%.

Se pudo observar que la pasta de moringa al 100% manifestó promedios de halo de inhibición de 12,45 mm a las 24 horas, mientras que para el grupo control de hidróxido de calcio al 100% solo manifestó un promedio de halo de inhibición 5,59 mm en el mismo periodo de tiempo. Esta diferencia se mantuvo constante en los siguientes periodos de tiempo de 48 y 72 horas, lo que indica que la pasta de moringa es más efectiva que el hidróxido de calcio en pasta, realizada la inferencia estadística con Anova  $p < 0.01$ ; y Post Hoc de Tukey  $p < 0.01$ , para inhibir el crecimiento de *Enterococcus faecalis*.

Además, el Análisis de Anova y la prueba Post Hoc de Tukey indicaron que hay discrepancia estadística significativa entre los resultados de las pastas de prueba. Por lo tanto, se puede concluir que la pasta de moringa oleífera presenta un efecto antibacteriano significativo contra *Enterococcus faecalis*.

Es de consideración resaltar que el proyecto descrito se efectuó en In Vitro y se debe tener en cuenta que los resultados pueden variar en situaciones clínicas. Sin embargo, estos resultados sugieren que la pasta de moringa oleífera podría ser considerada como una alternativa del hidróxido de calcio en pasta para tratamientos endodónticos en futuros estudios.

## SUGERENCIAS Y RECOMENDACIONES

- Se sugiere a la contribución de más estudios con mayor muestra y con otros procedimientos metodológicos, para comprobar y determinar su grado de efectividad, para el uso como antibacteriano de Moringa Oleífera, prestándole especial interés a sus hojas, ya que este proyecto es un apartado de observación In Vitro.
- Se recomienda determinar la selección de diferentes métodos de extracción de la hoja de Moringa Oleífera resaltando así para futuros estudios, que su actividad antibacteriana, puede variar dependiendo de las cepas bacterianas y el método de extracción utilizado, para así contribuir el uso de la Moringa oleífera en diversas ramas de la medicina.
- Sugerimos para los futuros estudios, enfatizar en el tiempo de exposición del bioma en la Moringa Oleífera ya que se ha podido demostrar mediante antecedentes que aun utilizando las mismas metodologías, los resultados indican valores distintos ya que se debe al tiempo de exposición del bioma.
- De manera óptima también sugerimos y alentamos a una futura continuación de estudios acerca de la moringa oleífera con el fin de obtener un fármaco, una pasta de acción antibiótica, aplicable en los tratamientos de endodoncias.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Muniz FWMG, Montagner F, Jacinto RC, Rösing CK, Gomes BPF. Correlation between crestal alveolar bone loss with intracanal bacteria and apical lesion area in necrotic teeth. *Arch Oral Biol.* 2018; 95:1-6.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30025275/>
2. Yamaguchi M, Noiri Y, Itoh Y, Komichi S, Yagi K, Uemura R, et al. Factors that cause endodontic failures in general practices in Japan. *BMC Oral Health.* 2018;18(1):70.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29703201/>
3. Siqueira Junior JF, Rôças IDN, Marceliano-Alves MF, Pérez AR, Ricucci D. Unprepared root canal surface areas: causes, clinical implications, and therapeutic strategies. *Braz Oral Res.* 2018;32(suppl 1):e65.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30365606/>
4. Ramezanali F, Samimi S, Kharazifard M, Afkhami F. The in Vitro Antibacterial Efficacy of Persian Green Tea Extract as an Intracanal Irrigant on *Enterococcus faecalis* Biofilm. *Iran Endod J.* 2016;11(4):304-308.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5069907/>
5. Alamo J, Guardia S, Mendoza R, Guerra L. Efectividad de tres irrigantes sobre el número de colonias de *Enterococcus faecalis* en la preparación de conductos radiculares in vitro. *KIRU.* 2015; 12(1): 8 - 12.  
<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-786663>
6. Infantes Vera R. Comparación de la efectividad antimicrobiana del extracto de propóleo comercial vs propóleo de la serranía sobre cultivos de *enterococcus faecalis* [Tesis de Licenciatura]. Trujillo: Universidad Los Ángeles de Chimbote; 2017.  
<https://repositorio.uladech.edu.pe/handle/20.500.13032/4664>

7. Del Carpio-Perochena AE, Bramante CM, Duarte MA, Cavenago BC, Villas-Boas MH, Graeff MS, et al. Biofilm dissolution and cleaning ability of different irrigant solutions on intraorally infected dentin. *J Endod*. 2011; 37(8):1134-1138.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21763908/>
8. Jara Castro MC. Evaluación de la acción antibacteriana de dos pastas a base de hidróxido de calcio sobre el enterococcus faecalis [Tesis de Maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2013.  
<http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/4284>
9. Ordinola-Zapata R, Noblett WC, Perez-Ron A, Ye Z, Vera J. Present status and future directions of intracanal medicaments. *Int Endod J*. 2022; 55 Suppl 3(Suppl 3):613-636.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35322427/>
10. Falzon CC, Balabanova A. Phytotherapy: An Introduction to Herbal Medicine. *Prim Care*. 2017; 44(2):217-227.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28501226/>
11. Mohanty M, Mohanty S, Bhuyan SK, Bhuyan R. Phytoperspective of *Moringa oleifera* for oral health care: An innovative ethnomedicinal approach. *Phytother Res*. 2021;35(3):1345-1357.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33089602/>
12. Liu R, Liu J, Huang Q, Liu S, Jiang Y. *Moringa oleifera*: a systematic review of its botany, traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicity. *J Pharm Pharmacol*. 2022;74(3):296-320.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34718669/>
13. Zubair M. Antimicrobial and Anti-Biofilm Activities of *Citrus sinensis* and *Moringa oleifera* Against the Pathogenic *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Cureus*. 2020;12(12):e12337.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33520533/>

14. Kashyap P, Kumar S, Riar CS, Jindal N, Baniwal P, Guiné RPF, et al. Recent Advances in Drumstick (*Moringa oleifera*) Leaves Bioactive Compounds: Composition, Health Benefits, Bioaccessibility, and Dietary Applications. *Antioxidants* (Basel). 2022; 11(2):402.  
<https://www.mdpi.com/2076-3921/11/2/402>
15. Seguel N, Quezada - Aguiluz M, Gonzáles - Rocha G, Bello - Toledo H, Sánchez - Sanhueza G. Antibiotic resistance of *Enterococcus faecalis* from persistent endodontic infections. 2020; 13 (3): 448 - 456.  
<https://www.scielo.cl/pdf/ijodontos/v14n3/0718-381X-ijodontos-14-03-448.pdf>
16. Korona-Glowniak I, Piatek D, Fornal E, Lukowiak A, Gerasymchuk Y, Kedziora A, et al. Patterns of Oral Microbiota in Patients with Apical Periodontitis. *J Clin Med*. 2021;10(12):2707.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8234888/>
17. Tandon J, Taneja S, Bhalla VK, Jain A. Evaluation of Bacterial Reduction at Various Stages of Endodontic Retreatment After Use of Different Disinfection Regimens: An In Vivo Study. *Eur Endod J*. 2022;7(3):210-216.
18. Alghamdi F, Shakir M. The Influence of *Enterococcus faecalis* as a Dental Root Canal Pathogen on Endodontic Treatment: A Systematic Review. *Cureus*. 2020; 12(3):e7257.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36217643/>
19. Marashdeh MQ, Gitalis R, Lévesque C, Finer Y. Endodontic pathogens possess collagenolytic properties that degrade human dentine collagen matrix. *Int Endod J*. 2019; 52(4):416-423.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30246356/>  
<https://www.oraljournal.com/pdf/2019/vol5issue1/PartD/5-1-35-948.pdf>
20. Jhajharia K. Microbiology of endodontic diseases: A review article. *Int J Appl Dent Sci* 2019;5(1):227-230.  
<https://www.oraljournal.com/pdf/2019/vol5issue1/PartD/5-1-35-948.pdf>

21. Siqueira JF Jr, Rôças IN. Present status and future directions: Microbiology of endodontic infections. *Int Endod J.* 2022;55 Suppl 3:512-530.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34958494/>
22. Arumugam B, Subramaniam A, Alagaraj P. A Review on Impact of Medicinal Plants on the Treatment of Oral and Dental Diseases. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem.* 2020;18(2):79-93.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32072908/>
23. Karim NA, Ibrahim MD, Kntayya SB, Rukayadi Y, Hamid HA, Razis AF. *Moringa oleifera* Lam: Targeting Chemoprevention. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2016;17(8):3675-3686.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27644601/>
24. Rochyani L. The inhibition of leaf extract *Moringaoleifera* on the formation biofilm bacteria *Enterococcus faecalis*. *DENTA;* 14 (1): 44 - 50.  
<https://doi.org/10.30649/denta.v14i1.7>
25. Romeo L, Iori R, Rollin P, Bramanti P, Mazzon E. Isothiocyanates: An Overview of Their Antimicrobial Activity against Human Infections. *Molecules.* 2018; 23(3):624.  
<https://www.mdpi.com/1422-0067/16/6/12791>
26. Leone A, Spada A, Battezzati A, Schiraldi A, Aristil J, Bertoli S. Cultivation, Genetic, Ethnopharmacology, Phytochemistry and Pharmacology of *Moringa oleifera* Leaves: An Overview. *Int J Mol Sci.* 2015;16(6):12791- 12835.  
<https://www.mdpi.com/1422-0067/16/6/12791>
27. Giurazza R, Mazza MC, Andini R, Sansone P, Pace MC, Durante-Mangoni E. Emerging Treatment Options for Multi-Drug-Resistant Bacterial Infections. *Life (Basel).* 2021;11(6):519.  
<https://www.mdpi.com/2075-1729/11/6/519>

28. Jahansepas A, Aghazadeh M, Rezaee MA, Hasani A, Sharifi Y, Aghazadeh T, et al. Occurrence of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* in Various Clinical Infections: Detection of Their Drug Resistance and Virulence Determinants. *Microb Drug Resist*. 2018;24(1):76-82.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28525287/>
29. Endo MS, Ferraz CCR, Zaia AA, Almeida JFA, Gomes BPFA. Quantitative and qualitative analysis of microorganisms in root-filled teeth with persistent infection: Monitoring of the endodontic retreatment. *Eur J Dent*. 2013;7(3):302-309.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24926210/>
30. Ran S, Liu B, Jiang W, Sun Z, Liang J. Transcriptome analysis of *Enterococcus faecalis* in response to alkaline stress. *Front Microbiol*. 2015;6:795.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4528170/>
31. Pereira RS, Rodrigues VAA, Furtado WT, Gueiros S, Pereira GS, Avila-Campos MJ. Microbial analysis of root canal and periradicular lesion associated to teeth with endodontic failure. *Anaerobe*. 2017;48:12-18.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28666877/>
32. Donmez Ozkan H, Cimen H, Ulug D, Wenski S, Yigit Ozer S, Telli M, et al. Nematode-Associated Bacteria: Production of Antimicrobial Agent as a Presumptive Nominee for Curing Endodontic Infections Caused by *Enterococcus faecalis*. *Front Microbiol*. 2019;10:2672.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6882856/>
33. Ghorbanzadeh A, Bahador A, Sarraf P, Ayar R, Fekrazad R, Asefi S. Ex vivo comparison of antibacterial efficacy of conventional chemomechanical debridement alone and in combination with light-activated disinfection and laser irradiation against *Enterococcus faecalis* biofilm. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2020;29:101648.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31904552/>

34. Milla PG, Peñalver R, Nieto G. Health Benefits of Uses and Applications of *Moringa oleifera* in Bakery Products. *Plants (Basel)*. 2021;10(2):318.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33562157/>
35. Rode SB, Dadmal A, Salankar HV. Nature's Gold (*Moringa Oleifera*): Miracle Properties. *Cureus*. 2022;14(7):e26640.  
<https://www.cureus.com/articles/103358-natures-gold-moringa-oleifera-miracle-properties#!/>
36. Fernandes EE, Pulwale AV, Patil GA, Moghe AS. Probing Regenerative Potential of *Moringa oleifera* Aqueous Extracts Using In vitro Cellular Assays. *Pharmacognosy Res*. 2016;8(4):231-237.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27695260/>
37. Chin CY, Jalil J, Ng PY, Ng SF. Development and formulation of *Moringa oleifera* standardised leaf extract film dressing for wound healing application. *J Ethnopharmacol*. 2018;212:188-199.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29080829/>
38. Das PE, Majdalawieh AF, Abu-Yousef IA, Narasimhan S, Poltronieri P. Use of A Hydroalcoholic Extract of *Moringa oleifera* Leaves for the Green Synthesis of Bismuth Nanoparticles and Evaluation of Their Anti-Microbial and Antioxidant Activities. *Materials (Basel)*. 2020;13(4):876.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32075305/>
39. Abadallah MS, Ali M. Antibacterial Activity of *Moringa Oleifera* Leaf Extracts against Bacteria Isolated From Patients Attending General Sani Abacha Specialist Hospital Damaturu. *J Allied Pharm Sci*. 2019; 1(1): 61 - 66.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8869219/>
40. Peixoto JR, Silva GC, Costa RA, de Sousa Fontenelle JR, Vieira GH, Filho AA, et al. In vitro antibacterial effect of aqueous and ethanolic *Moringa* leaf extracts. *Asian Pac J Trop Med*. 2011;4(3):201-204.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21771453/>

41. Ríos López AI, Yamasaki Peña fh. efecto antibacteriano del extracto metanólico de Moringa oleifera ( Moringa) combinado con hidroxido de calcio sobre cepas de Enterococcus faecalis (ATCC29212) [Tesis de pregrado] Lima, Perú  
<https://repositorioacademico.upc.edu.pe/handle/10757/626087>
42. Arévalo-Híjar L, Aguilar-Luis MÁ, Caballero-García S, Gonzáles-Soto N, Del Valle-Mendoza J. Antibacterial and Cytotoxic Effects of Moringa oleifera (Moringa) and Azadirachta indica (Neem) Methanolic Extracts against Strains of Enterococcus faecalis. Int J Dent. 2018;2018:1071676.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30356384/>
43. Arévalo Híjar OL. 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 Licenciatura]. Lima: Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas; 2017.  
<https://repositorioacademico.upc.edu.pe/handle/10757/621020?show=full>
44. Ñaupá PY, Ballarte BA. Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico y aceite esencial del Zingiber officinale (jengibre) al 15 % en comparación con el hipoclorito de sodio al 5,25% sobre la enterococcus faecalis en el laboratorio Bio vital Huánuco - 2021. [Tesis de Pregrado]. Huanuco, Perú.2021  
<https://repositorio.unheval.edu.pe/handle/20.500.13080/6558>
45. Azim AA, Merdad K, Peters OA. Diagnosis consensus among endodontic specialists and general practitioners: An international survey and a proposed modification to the current diagnostic terminology. Int Endod J. 2022;55(11):1202-1211.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35984730/>
46. Wong J, Manoil D, Näsman P, Belibasakis GN, Neelakantan P. Microbiological Aspects of Root Canal Infections and Disinfection

Strategies: An Update Review on the Current Knowledge and Challenges. *Front Oral Health*. 2021;2:672887.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8757850/>

47. Barbosa-Ribeiro M, Arruda-Vasconcelos R, de-Jesus-Soares A, Zaia AA, Ferraz CCR, de Almeida JFA, et al. Effectiveness of calcium hydroxide-based intracanal medication on infectious/inflammatory contents in teeth with post-treatment apical periodontitis. *Clin Oral Investig*. 2019;23(6):2759-2766.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30367257/>
48. Bronzato JD, Davidian MES, de Castro M, de-Jesus-Soares A, Ferraz CCR, Almeida JFA, et al. Bacteria and virulence factors in periapical lesions associated with teeth following primary and secondary root canal treatment. *Int Endod J*. 2021; 54(5):660-671.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33270246/>
49. Mohammadi Z, Soltani MK, Shalavi S. An update on the management of endodontic biofilms using root canal irrigants and medicaments. *Iran Endod J*. 2014;9(2):89-97.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24688576/>
50. Swanljung O, Vehkalahti MM. Root Canal Irrigants and Medicaments in Endodontic Malpractice Cases: A Nationwide Longitudinal Observation. *J Endod*. 2018;44(4):559-564.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29459149/>
51. Kim D, Kim E. Antimicrobial effect of calcium hydroxide as an intracanal medicament in root canal treatment: a literature review - Part I. In vitro studies. *Restor Dent Endod*. 2014;39(4):241-252.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4223092/>
52. Kim D, Kim E. Antimicrobial effect of calcium hydroxide as an intracanal medicament in root canal treatment: a literature review - Part II. in vivo studies. *Restor Dent Endod*. 2015;40(2):97-103.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4432264/>

53. Mohammadi Z, Jafarzadeh H, Shalavi S, Sahebalam R, Kinoshita JI. Additive and reducing Effects between Calcium Hydroxide and Current Irrigation Solutions. *J Contemp Dent Pract.* 2017;18(3):246-249. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28258273/>
54. Mohammadi Z, Shalavi S, Yazdizadeh M. Antimicrobial activity of calcium hydroxide in endodontics: a review. *Chonnam Med J.* 2012;48(3):133-140. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23323217/>
55. Vasudeva A, Sinha DJ, Tyagi SP, Singh NN, Garg P, Upadhyay D. Disinfection of dentinal tubules with 2% Chlorhexidine gel, Calcium hydroxide and herbal intracanal medicaments against *Enterococcus faecalis*: An in-vitro study. *Singapore Dent J.* 2017;38:39-44. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29229073/>
56. Khan A, Nikhil V, Pandey A, Chaturvedi P. Effectiveness of polyhexamethylene biguanide, chlorhexidine, and calcium hydroxide intracanal medicament against intraradicular mature polymicrobial biofilm: A microbiological study. *J Conserv Dent.* 2022;25(5):536-540. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9733553/>
57. Baena-Santillán ES, Piloni-Martini J, Rangel-Vargas E, Gómez-Aldapa CA, Sánchez-Gutiérrez M, Madrigal-Santillán EO, et al. Comparison of the Antibacterial Activity and Effect on Membrane Permeability of Hibiscus Acid and a Commercial Chlorhexidine Mouthrinse Against Pathogenic Oral Bacteria and Determination of Hibiscus Acid Toxicity. *J Med Food.* 2022;25(3):324-328. [https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/jmf.2020.0207?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori:rid:crossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub%20%20pubmed](https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/jmf.2020.0207?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed)
58. Rodríguez - Niklitschek C, Oporto GH. Implicancias clínicas de la contaminación microbiana por *Streptococcus faecalis* en canales radiculares de dientes desvitalizados: Revisión bibliográfica. *Rev Odont Mex.* 2015; 19(3): 181-186.

[https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-199X2015000300181](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-199X2015000300181)

59. Saffari F, Sobhanipour MH, Shahravan A, Ahmadrajabi R. Virulence Genes, Antibiotic Resistance and Capsule Locus Polymorphisms in *Enterococcus faecalis* isolated from Canals of Root-Filled Teeth with Periapical Lesions. *Infect Chemother*. 2018;50(4):340-345.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6312899/>
60. Jain H, Mulay S, Mullany P. Persistence of endodontic infection and *Enterococcus faecalis*: Role of horizontal gene transfer. *Gene reports*. 2016; 5:112-116.
61. Pedraza Maquera KI. Medicación intraconducto frente al *Enterococcus faecalis*. *Rev Odont Basadrina*. 2019; 2: 49 -55.  
<https://revistas.unjbg.edu.pe/index.php/rob/article/view/893>
62. Fiore E, Van Tyne D, Gilmore MS. Pathogenicity of Enterococci. *Microbiol Spectr*. 2019;7(4):10.  
[https://journals.asm.org/doi/10.1128/microbiolspec.GPP3-0053-2018?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori:rid:crossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub%20%20pubmed](https://journals.asm.org/doi/10.1128/microbiolspec.GPP3-0053-2018?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed)
63. Delboni MG, Gomes BP, Francisco PA, Teixeira FB, Drake D. Diversity of *Enterococcus faecalis* Genotypes from Multiple Oral Sites Associated with Endodontic Failure Using Repetitive Sequence-based Polymerase Chain Reaction and Arbitrarily Primed Polymerase Chain Reaction. *J Endod*. 2017;43(3):377-382.  
[https://www.jendodon.com/article/S0099-2399\(16\)30860-3/fulltext](https://www.jendodon.com/article/S0099-2399(16)30860-3/fulltext)
64. Barbosa-Ribeiro M, Arruda-Vasconcelos R, Louzada LM, Dos Santos DG, Andreote FD, Gomes BPFA. Microbiological analysis of endodontically treated teeth with apical periodontitis before and after endodontic retreatment. *Clin Oral Investig*. 2021;25(4):2017-2027.  
<https://link.springer.com/article/10.1007/s00784-020-03510-2#citeas>

65. Francisco PA, Fagundes PIDG, Lemes-Junior JC, Lima AR, Passini MRZ, Gomes BPFA. Pathogenic potential of *Enterococcus faecalis* strains isolated from root canals after unsuccessful endodontic treatment. *Clin Oral Investig*. 2021;25(9):5171-5179.  
<https://link.springer.com/article/10.1007/s00784-021-03823-w#citeas>
66. Vatankhah M, Khosravi K, Zargar N, Shirvani A, Nekoofar MH, Dianat O. Antibacterial efficacy of antibiotic pastes versus calcium hydroxide intracanal dressing: A systematic review and meta-analysis of ex vivo studies. *J Conserv Dent*. 2022;25(5):463-480.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9733540/>
67. Garbe J, Sjögren J, Cosgrave EF, Struwe WB, Bober M, Olin AI, et al. EndoE from *Enterococcus faecalis* hydrolyzes the glycans of the biofilm inhibiting protein lactoferrin and mediates growth. *PLoS One*. 2014;9(3):e91035.  
<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0091035>
68. Nair VS, Nayak M, Ramya MK, Sivadas G, Ganesh C, Devi SL, et al. Detection of adherence of *Enterococcus faecalis* in infected dentin of extracted human teeth using confocal laser scanning microscope: an in vitro study. *J Pharm Bioallied Sci*. 2017; 9(Suppl 1):S41–44.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5731042/>
69. Colaco AS. Extreme resistance of *Enterococcus faecalis* and its role in endodontic treatment failure. *Prog Med Sci*. 2018; 2(1): 1 - 5.  
[https://www.jendodon.com/article/S0099-2399\(05\)00093-2/fulltext#%20](https://www.jendodon.com/article/S0099-2399(05)00093-2/fulltext#%20)
70. Morozova Y, Voborná I, Žižka R, Bogdanová K, Večeřová R, Rejman D, et al. Ex Vivo Effect of Novel Lipophosphonoxins on Root Canal Biofilm Produced by *Enterococcus faecalis*: Pilot Study. *Life (Basel)*. 2022;12(1):129.  
<https://www.mdpi.com/2075-1729/12/1/129>

71. Niavarzi S, Pourhajibagher M, Khedmat S, Ghabraei S, Chiniforush N, Bahador A. Effect of ultrasonic activation on the efficacy of antimicrobial photodynamic therapy: Evaluation of penetration depth of photosensitizer and elimination of *Enterococcus faecalis* biofilms. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2019;27:362-366.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1572100019301127?via%3Dihub>
72. Divakar N, Mohan SP, Pulyodan MK, Tom A, Karukayil D, Somasundaram M. Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Calcium Hydroxide along with Proton Pump Inhibitor against *Enterococcus Faecalis*. *J Pharm Bioallied Sci.* 2020;12(Suppl 1):S352-S354.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7595555/>
73. Kranz S, Guellmar A, Braeutigam F, Tonndorf-Martini S, Heyder M, Reise M, et al. Antibacterial Effect of Endodontic Disinfections on *Enterococcus Faecalis* in Dental Root Canals-An In-Vitro Model Study. *Materials (Basel).* 2021;14(9):2427.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8125760/>
74. Qian W, Ma T, Ye M, Li Z, Liu Y, Hao P. Microbiota in the apical root canal system of tooth with apical periodontitis. *BMC Genomics.* 2019;20(Suppl 2):189.  
<https://bmcbgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12864-019-5474-y#citeas>
75. Dioguardi M, Di Gioia G, Illuzzi G, Arena C, Caponio VCA, Caloro GA, et al. Inspection of the Microbiota in Endodontic Lesions. *Dent J (Basel).* 2019;7(2):47.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6630690/>
76. Zhang C, Du J, Peng Z. Correlation between *Enterococcus faecalis* and Persistent Intraradicular Infection Compared with Primary Intraradicular Infection: A Systematic Review. *J Endod.* 2015; 41(8):1207-1213.  
[https://www.jendodon.com/article/S0099-2399\(15\)00377-5/fulltext](https://www.jendodon.com/article/S0099-2399(15)00377-5/fulltext)

77. Moryl M, Palatyńska-Ulatowska A, Maszewska A, Grzejdziak I, Dias de Oliveira S, Pradebon MC, et al. Benefits and Challenges of the Use of Two Novel vB\_Efa29212\_2e and vB\_Efa29212\_3e Bacteriophages in Biocontrol of the Root Canal *Enterococcus faecalis* Infections. *J Clin Med*. 2022;11(21):6494.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9658868/>
78. Harshitha VS, Ranjini MA, Nadig RR. Antibacterial efficacy of nisin, calcium hydroxide, and triple antibiotic paste in combination with chitosan as an intracanal medicament against *Enterococcus faecalis* - An in vitro study. *J Conserv Dent*. 2022;25(5):504-509.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9733548/>
79. Balić M, Lucić R, Mehadžić K, Bago I, Anić I, Jakovljević S, et al. The efficacy of photon-initiated photoacoustic streaming and sonic-activated irrigation combined with QMiX solution or sodium hypochlorite against intracanal *E. faecalis* biofilm. *Lasers Med Sci*. 2016; 31(2):335-342.  
<https://link.springer.com/article/10.1007/s10103-015-1864-9>
80. Golob BS, Olivi G, Vrabec M, El Feghali R, Parker S, Benedicenti S. Efficacy of Photon-induced Photoacoustic Streaming in the Reduction of *Enterococcus faecalis* within the Root Canal: Different Settings and Different Sodium Hypochlorite Concentrations. *J Endod*. 2017;43(10):1730-1735.  
[https://www.jendodon.com/article/S0099-2399\(17\)30697-0/fulltext](https://www.jendodon.com/article/S0099-2399(17)30697-0/fulltext)
81. Hidalgo LRDC, Silva LABD, Leoni GB, Mazzi-Chaves JF, Carvalho EEDS, Consolaro A, et al. Mechanical Preparation Showed Superior Shaping Ability than Manual Technique in Primary Molars - A Micro-Computed Tomography Study. *Braz Dent J*. 2017; 28(4):453-460.  
<https://www.scielo.br/j/bdj/a/Q5N9YbpCYshbqSkfPpkyw3j/?lang=en>
82. Zancan RF, Vivan RR, Milanda Lopes MR, Weckwerth PH, de Andrade FB, Ponce JB, et al. Antimicrobial Activity and Physicochemical Properties of Calcium Hydroxide Pastes Used as Intracanal Medication. *J Endod*. 2016;42(12):1822-1828.  
[https://www.jendodon.com/article/S0099-2399\(16\)30549-0/fulltext](https://www.jendodon.com/article/S0099-2399(16)30549-0/fulltext)

83. Pereira TC, da Silva Munhoz Vasconcelos LR, Graeff MSZ, Ribeiro MCM, Duarte MAH, de Andrade FB. Intratubular decontamination ability and physicochemical properties of calcium hydroxide pastes. *Clin Oral Investig*. 2019;23(3):1253-1262.  
<https://link.springer.com/article/10.1007/s00784-018-2549-0#citeas>
84. Zancan RF, Cavenago BC, Oda DF, Bramante CM, Andrade FB, Duarte MAH. Antimicrobial Activity and Physicochemical Properties of Antibiotic Pastes Used In Regenerative Endodontics. *Braz Dent J*. 2019;30(6):536-541.  
<https://www.scielo.br/j/bdj/a/dfnnZdytBLBMSNW64CpRbBz/?lang=en>
85. Momenijavid M, Salimizand H, Korani A, Dianat O, Nouri B, Ramazanzadeh R, et al. Effect of calcium hydroxide on morphology and physicochemical properties of *Enterococcus faecalis* biofilm. *Sci Rep*. 2022;12(1):7595.  
<https://www.nature.com/articles/s41598-022-11780-x>
86. Jaiswal S, Patil V, Satish Kumar KS, Ratnakar P, Rairam S, Tripathi S. Comparative analysis of smear layer removal by conventional endodontic irrigants with a newly experimented irrigant-fumaric acid: A scanning electron microscopic study. *J Conserv Dent*. 2018;21(4):419-423.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6080187/>
87. El-Dahiyat F, Rashrash M, Abuhamdah S, Abu Farha R, Babar ZU. Herbal medicines: a cross-sectional study to evaluate the prevalence and predictors of use among Jordanian adults. *J Pharm Policy Pract*. 2020;13:2.  
<https://joppp.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40545-019-0200-3>
88. Baars EW, Zoen EB, Breitzkreuz T, Martin D, Matthes H, von Schoen-Angerer T, et al. The Contribution of Complementary and Alternative Medicine to Reduce Antibiotic Use: A Narrative Review of Health Concepts, Prevention, and Treatment Strategies. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2019;2019:5365608.  
<https://www.hindawi.com/journals/ecam/2019/5365608/>

89. Natto ZS. Assessing knowledge of herbal medicine course for dental students. *BMC Complement Med Ther.* 2022;22(1):319.  
<https://bmccomplementmedtherapies.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12906-022-03801-z>
90. Enioutina EY, Teng L, Fateeva TV, Brown JCS, Job KM, Bortnikova VV, et al. Phytotherapy as an alternative to conventional antimicrobials: combating microbial resistance. *Expert Rev Clin Pharmacol.* 2017;10(11):1203-1214.  
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17512433.2017.1371591?scroll=top&needAccess=true&role=tab&aria-labelledby=full-article>
91. Pop OL, Kerezsi AD, Ciont Nagy C. A Comprehensive Review of Moringa oleifera Bioactive Compounds-Cytotoxicity Evaluation and Their Encapsulation. *Foods.* 2022;11(23):3787.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9737119/>
92. Yang M, Tao L, Kang XR, Li LF, Zhao CC, Wang ZL, et al. Recent developments in Moringa oleifera Lam. polysaccharides: A review of the relationship between extraction methods, structural characteristics and functional activities. *Food Chem X.* 2022; 14:100322.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2590157522001201?via%3Dihub>
93. Brilhante RSN, Sales JA, Pereira VS, Castelo-Branco DSCM, Cordeiro RA, de Souza Sampaio CM, et al. Research advances on the multiple uses of Moringa oleifera: A sustainable alternative for socially neglected population. *Asian Pac J Trop Med.* 2017;10(7):621-630.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1995764516307143?via%3Dihub>
94. Hamza TA, Azmach NN. The miraculous moringa trees: From nutritional and medicinal point of views in tropical regions. *J Med Plants Stud.* 2017; 5(4): 151-162. <https://www.semanticscholar.org/paper/The->

miraculous-moringa-trees%3A-From-nutritional-and-Hamza-  
Azmach/d0b6da4ddb8dacf4ee19ef601206c45e962a0888#citing-papers

95. Kim DS, Choi MH, Shin HJ. Extracts of *Moringa oleifera* leaves from different cultivation regions show both antioxidant and antiobesity activities. *J Food Biochem*. 2020;44(7):e13282.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8834631/>
96. Xu Y, Chen G, Guo M. Correlations between phytochemical fingerprints of *Moringa oleifera* leaf extracts and their antioxidant activities revealed by chemometric analysis. *Phytochem Anal*. 2021; 32(5):698-709.  
<https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pca.3016>
97. Guivar MI, Menor AM, Tirado VJ. Efecto del pH en la obtención de aislado proteico de moringa (*Moringa oleifera*) y su aplicación. [Tesis de pregrado]. Lambayeque: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; 2021.  
<https://hdl.handle.net/20.500.12893/9089>
98. Abd El-Hack ME, Alqhtani AH, Swelum AA, El-Saadony MT, Salem HM, Babalghith AO, et al. Pharmacological, nutritional and antimicrobial uses of *Moringa oleifera* Lam. leaves in poultry nutrition: an updated knowledge. *Poult Sci*. 2022;101(9):102031.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032579122003224?via%3Dihub>
99. Vergara-Jimenez M, Almatrafi MM, Fernandez ML. Bioactive Components in *Moringa Oleifera* Leaves Protect against Chronic Disease. *Antioxidants (Basel)*. 2017;6(4):91.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5745501/>
100. Lopez-Rodriguez NA, Gaytán-Martínez M, de la Luz Reyes-Vega M, Loarca-Piña G. Glucosinolates and Isothiocyanates from *Moringa oleifera*: Chemical and Biological Approaches. *Plant Foods Hum Nutr*. 2020;75(4):447-457.  
<https://link.springer.com/article/10.1007/s11130-020-00851-x>

101. Hassan MA, Xu T, Tian Y, Zhong Y, Ali FAZ, Yang X, et al. Health benefits and phenolic compounds of *Moringa oleifera* leaves: A comprehensive review. *Phytomedicine*. 2021;93:153771.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0944711321003147?via%3Dihub>
102. Arora S, Arora S. Nutritional significance and therapeutic potential of *Moringa oleifera*: The wonder plant. *J Food Biochem*. 2021;45(10):e13933.  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jfbc.13933>
103. Gothai S, Arulselvan P, Tan WS, Fakurazi S. Wound healing properties of ethyl acetate fraction of *Moringa oleifera* in normal human dermal fibroblasts. *J Intercult Ethnopharmacol*. 2016;5(1):1-6.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4805140/>
104. Gothai S, Muniandy K, Zarin MA, Sean TW, Kumar SS, Munusamy MA, et al. Chemical Composition of *Moringa oleifera* Ethyl Acetate Fraction and Its Biological Activity in Diabetic Human Dermal Fibroblasts. *Pharmacogn Mag*. 2017;13(Suppl 3):S462-S469.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5669083/>
105. Hadju V, Dassir M, Putranto A, Sadapotto A. Chemical composition of *Moringa oleifera* and Honey from three different Areas in South Sulawesi, Indonesia. *Gac Sanit*. 2021;35 Suppl 2:S396-S399.  
<https://www.gacetasanitaria.org/en-linkresolver-chemical-composition-moringa-oleifera-honey-S0213911121002545>
106. Hassan MA, Xu T, Tian Y, Zhong Y, Ali FAZ, Yang X, et al. Health benefits and phenolic compounds of *Moringa oleifera* leaves: A comprehensive review. *Phytomedicine*. 2021;93:153771.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0944711321003147?via%3Dihub>
107. Chigurupati S, Al-Murikhy A, Almahmoud SA, Almoshari Y, Saber Ahmed A, Vijayabalan S, et al. Molecular docking of phenolic

compounds and screening of antioxidant and antidiabetic potential of *Moringa oleifera* ethanolic leaves extract from Qassim region, Saudi Arabia. *Saudi J Biol Sci.* 2022; 29(2):854-859.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319562X21008998?via%3Dihub>

108. Rahayu I, Timotius KH. Phytochemical Analysis, Antimutagenic and Antiviral Activity of *Moringa oleifera* L. Leaf Infusion: In Vitro and In Silico Studies. *Molecules.* 2022; 27(13):4017.  
<https://www.mdpi.com/1420-3049/27/13/4017>
109. Stohs SJ, Hartman MJ. Review of the Safety and Efficacy of *Moringa oleifera*. *Phytother Res.* 2015 Jun;29(6):796-804.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6680322/>
110. Paikra BK, Dhongade HKJ, Gidwani B. Phytochemistry and Pharmacology of *Moringa oleifera* Lam. *J Pharmacopuncture.* 2017;20(3):194-200.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5633671/>
111. Bagheri G, Martorell M, Ramírez-Alarcón K, Salehi B, Sharifi-Rad J. Phytochemical screening of *Moringa oleifera* leaf extracts and their antimicrobial activities. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand).* 2020;66(1):20-26.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32359378/>
112. He L, Lv H, Chen N, Wang C, Zhou W, Chen X, et al. Improving fermentation, protein preservation and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaves silage with gallic acid and tannin acid. *Bioresour Technol.* 2020;297:122390.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852419316207?via%3Dihub>
113. Ndlovu SS, Ghazi T, Chuturgoon AA. The Potential of *Moringa oleifera* to Ameliorate HAART-Induced Pathophysiological Complications. *Cells.* 2022;11(19):2981.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9563018/>

114. Paikra BK, Dhongade HKJ, Gidwani B. Phytochemistry and Pharmacology of *Moringa oleifera* Lam. *J Pharmacopuncture*. 2017;20(3):194-200.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5633671/>
115. Kou X, Li B, Olayanju JB, Drake JM, Chen N. Nutraceutical or Pharmacological Potential of *Moringa oleifera* Lam. *Nutrients*. 2018;10(3):343.  
<https://www.mdpi.com/2072-6643/10/3/343>
116. Supo J. Seminarios de investigación científica-Metodología de la Investigación para las Ciencias de la Salud. 2nd ed. Arequipa-Perú: Bioestadístico EIRL; 2014.  
[https://kupdf.com/download/investigacion-cientifica-jos-eacute-supopdf\\_58f42a6adc0d60c24cda983e\\_pdf#](https://kupdf.com/download/investigacion-cientifica-jos-eacute-supopdf_58f42a6adc0d60c24cda983e_pdf#)

## **ANEXOS**

## Anexo 1 Matriz de consistencia

### TÍTULO: “EFICACIA ANTIBACTERIANA DE LA MORINGA OLEÍFERA SOBRE EL ENTEROCOCCUS FAECALIS ATCC29212 (ESTUDIO IN VITRO), HUÁNUCO - 2022”

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPÓTESIS	VARIABLE	METODOLOGÍA	INSTRUMENTO
<p><b>Problema General:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>¿Cuál es la actividad antibacteriana de la pasta de Moringa Oleífera (moringa) sobre el <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC29212 (estudio in vitro) Huánuco 2022?</li> </ul> <p><b>Problema Específico:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Cuál es el efecto antibacteriano del hidróxido de Calcio al 100% en 24 horas, 48 horas y 72 horas sobre el <i>Enterococcus</i></li> </ul>	<p><b>Objetivo General:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Determinar la actividad antibacteriana de la pasta de Moringa Oleífera sobre el <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC29212. (estudio in vitro) Huánuco 2022.</li> </ul> <p><b>Objetivos Específicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Determinar el efecto antibacteriano del hidróxido de Calcio al 100% en 24 horas, 48 horas y a las 72 horas sobre el <i>Enterococcus</i></li> </ul>	<p><b>Hi: Hipótesis de Investigación:</b></p> <p>Existe eficacia antibacteriana en al menos uno de los grupos de estudio sobre el <i>Enterococcus faecalis</i>.</p> <p><b>Ho: Hipótesis Nula:</b></p> <p>No existe eficacia antibacteriana en los grupos de estudio sobre el <i>Enterococcus faecalis</i>.</p> <p><b>Hipótesis específicas</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Hi:</b> Existe eficacia antibacteriana en el</li> </ul>	<p><b>Variable Independiente:</b></p> <p>Pasta de Moringa oleífera</p> <p>Pasta de CaoH</p> <p><b>Variables Dependiente:</b></p> <p>Eficacia antibacteriana</p>	<p><b>Nivel:</b></p> <p>Explicativo</p> <p><b>Tipo:</b></p> <p>Prospectivo Longitudinal Cuasi experimental Cuantitativa</p> <p><b>Universo:</b></p> <p>Estará constituida por la cepa bacteriana de <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC®29212) del laboratorio Genlab</p> <p><b>Muestra:</b></p> <p>Para establecer el número de la muestra se usara realizara una prueba piloto para</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Medida de halos inhibitorios en milímetros</li> <li>Guía para la Observación</li> <li>Ficha para la recolección de los datos</li> </ul>

<p><i>Faecalis</i> ATCC®29212 (In Vitro) Huánuco - 2022?</p> <p>• ¿Cuál es el efecto antibacteriano de la Moringa Oleífera al 100% en 24 horas, 48 horas y 72 horas sobre el <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC®29212 (In Vitro) Huánuco - 2022?</p>	<p><i>Faecalis</i> ATCC®29212 (In Vitro) Huánuco - 2022.</p> <p>• Determinar el efecto antibacteriano de la Moringa Oleífera al 100% en 24 horas, 48 horas y a las 72 horas sobre el <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC®29212 (In Vitro) Huánuco - 2022.</p>	<p>Hidróxido de calcio al 100% sobre el <i>Enterococcus faecalis</i>.</p> <p><b>Ho:</b> No existe eficacia antibacteriana en el Hidróxido de calcio al 100% sobre el <i>Enterococcus faecalis</i>.</p> <p>• <b>Hi:</b> Existe eficacia antibacteriana en la Moringa oleífera al 100% sobre el <i>Enterococcus faecalis</i>.</p> <p><b>Ho:</b> No existe eficacia antibacteriana en la Moringa oleífera al 100% sobre el</p>		<p>encontrar el valor promedio y desviación estándar de los grupos experimentales y grupo control, para luego aplicar la fórmula de determinación de medias mediante el software OpenEpi y establecer la cantidad adecuada de muestras.</p>	
<p><i>Faecalis</i> ATCC®29212 (In Vitro) Huánuco - 2022?</p> <p>• ¿Cuál es el efecto antibacteriano de la Moringa Oleífera al 50% en 24 horas, 48 horas y 72 horas sobre el <i>Enterococcus</i></p>	<p><i>Faecalis</i> ATCC®29212 (In Vitro) Huánuco - 2022.</p> <p>• Determinar el efecto antibacteriano de la Moringa Oleífera al 50% en 24 horas, 48 horas y a las 72 horas sobre el <i>Enterococcus</i></p>	<p>Hidróxido de calcio al 100% sobre el <i>Enterococcus faecalis</i>.</p> <p><b>Ho:</b> No existe eficacia antibacteriana en la Moringa oleífera al 100% sobre el</p>			

<p><i>Faecalis</i> ATCC®29212 (In Vitro) Huánuco - 2022?</p> <p>• ¿Cuál es el efecto antibacteriano de la Moringa Oleífera en comparación con el hidróxido de calcio al 100% a las 24 horas, 48 horas y 72 horas sobre el <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC®29212 (In Vitro) Huánuco - 2022?</p>	<p><i>Faecalis</i> ATCC®29212 (In Vitro) Huánuco - 2022.</p> <p>• Determinar el efecto antibacteriano de la Moringa Oleífera en comparación al hidróxido de calcio al 100% a las 24 horas, 48 horas y 72 horas sobre el <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC®29212 (In Vitro) Huánuco - 2022.</p>	<p><i>Enterococcus faecalis</i>.</p> <p>• <b>Hi:</b> Existe eficacia antibacteriana en la Moringa oleífera al 50% sobre el <i>Enterococcus faecalis</i>.</p> <p><b>Ho:</b> No existe eficacia antibacteriana en la Moringa oleífera al 50% sobre el <i>Enterococcus faecalis</i>.</p> <p>• <b>Hi:</b> Existe eficacia antibacteriana en la Moringa oleífera en comparación al Hidróxido de calcio sobre el</p>			
--	--	--	--	--	--

		<p><i>Enterococcus faecalis.</i></p> <p><b>Ho:</b> No existe eficacia antibacteriana en la Moringa oleifera en comparación al Hidróxido de calcio sobre el</p> <p><i>Enterococcus faecalis.</i></p>			
--	--	---	--	--	--

## Anexo 2 Contenido nutricional de las partes de *Moringa oleifera*.

	Hoja <sup>f</sup> /Hoja <sup>d</sup> /Hoja <sup>d</sup> /Hoja <sup>d</sup> /Hoja <sup>d</sup> /Hoja <sup>d</sup> /				Cáscara semilla <sup>1</sup>	Semilla s/c <sup>1</sup>	Pobre de <sup>1</sup> Hoja <sup>4</sup>	Vaina <sup>2</sup>		
	Hoja <sup>f</sup>	Hoja <sup>d</sup>	Hoja <sup>d</sup>	Hoja <sup>d</sup>						
Humedad% / Humedad%	75,00	7,50	79,20	--	--	--	--	86,90		
Calorías en 100 g / Calorías en 100 g	92,00	205,00	--	--	--	--	--	26,00		
Proteína (g) / Proteína (g)	0,07	0,27	--	0,26	0,44	0,10	0,37	0,07	0,06	0,03
Grasa (g) / Grasa (g)	0,02	0,02	--	Nd	0,01	0,02	0,42	Nd	Nd	0,00
Carbohidratos (g) / Carbohidratos (g)	0,13	0,38	--	--	--	--	--	--	--	0,04
Fibra (g) / Fibra (g)	0,01	0,19	--	--	--	--	--	--	--	0,05
Ceniza (mg · g <sup>-1</sup> ) / Cenizas (mg · g <sup>-1</sup> )	--	--	--	0,09	0,10	0,02	0,03	0,09	0,07	--
Minerales (g) / Minerales (g)	0,02	--	--	--	--	--	--	--	--	0,02
Fenoles totales (mg · g <sup>-1</sup> ) / Fenoles totales (mg · g <sup>-1</sup> )	--	--	--	--	34,00	--	--	--	--	--
Taninos (mg · g <sup>-1</sup> ) / Taninos (mg · g <sup>-1</sup> )	--	--	--	--	14,00	--	--	--	--	--
Saponinas(mg·g <sup>-1</sup> ) / Saponinas(mg·g <sup>-1</sup> )	--	--	--	--	50,00	--	--	--	--	--
Fitatos(mg·g <sup>-1</sup> ) / Fitatos(mg·g <sup>-1</sup> )	--	--	--	--	31,00	--	--	--	--	--
Energía bruta (MJ · kg <sup>-1</sup> ) / Energía cruda (MJ · kg <sup>-1</sup> )	--	--	--	19,35	17,70	21,62	26,68	18,52	18,95	--
Caroteno (vit. A) (mg) / Caroteno (vit. A) (mg)	0,07	0,19	1,93	--	--	--	--	--	--	--
β-caroteno (mg) / β-caroteno (mg)	--	--	0,93	--	--	--	--	--	--	--
Tiamina (B1) (mg) / Tiamina (B1) (mg)	0,00	0,00	--	--	--	--	--	--	--	--
Riboflavina (B2) (mg) / Riboflavina (B2) (mg)	0,00	0,21	--	--	--	--	--	--	--	--
Niacina (B3) (mg) / Niacina (B3) (mg)	0,01	0,08	--	--	--	--	--	--	--	--
Vitamina C (mg) / Vitamina C (mg)	2,20	0,17	--	--	--	--	--	--	--	--
Ácido ascórbico (mg) / C.A. ascórbico (mg)	--	--	6,60	--	--	--	--	--	--	--

Nd. = no detectado

f. = fresco

Ext. = extraído

d. = deshidratado

p. = pelado

s / c = sin cáscara

**Abbas (2013); Dhakar y col. (2011). Makkar y Becker (1996); Nambiar y Seshadri (2001)**

### Anexo 3 Elements in different parts of Moringa oleifera

Element / Elemento	Leaf f <sub>s</sub> / Hoja f <sub>s</sub>	Leaf d <sub>s</sub> / Hoja d <sub>s</sub>	Leaf d <sub>f</sub> / Hoja d <sub>f</sub>	Leaf d <sub>i</sub> / Hoja d <sub>i</sub>	Leaf d <sub>u</sub> / Hoja d <sub>u</sub>	Pods / Vaina <sub>s</sub>	Pod p.i. <sub>s</sub> / Vaina p.i. <sub>s</sub>	Pods / Vaina <sub>s</sub>	Flowers / Flor <sub>s</sub>	Petioles f.p. <sub>s</sub> / Pecioles p.f. <sub>s</sub>	Seed w/hs / Semilla <sub>s</sub> c/c	Seed w/hs / Semilla <sub>s</sub> s.c.	Stems / Tallo <sub>s</sub>	Stem f.p. <sub>s</sub> / Tallo p.f. <sub>s</sub>	Roots / Raiz <sub>s</sub>	
Calcium / Calcio	4.400	20.03	22.40	-	0.019	0.300	0.100	0.180	0.170	0.270	0.720	0.120	0.143	0.340	0.180	0.300
Manganese / Manganeso	0.420	3.680	-	-	0.052	0.240	-	-	-	-	1.700	0.290	3.00 x 10 <sup>-2</sup>	-	-	-
Phosphorous / Fósforo	0.700	2.040	6.300	-	2.500	1.100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Potassium / Potasio	2.590	13.24	-	-	17.70	0.240	2.740	4.490	3.510	2.510	1.710	1.100	2.550	4.420	1.970	2.050
Copper / Cobre	0.007	0.006	-	0.032	0.009	0.031	-	-	-	-	-	-	1.23 x 10 <sup>-2</sup>	-	-	-
Iron / Hierro	0.009	0.282	0.260	-	0.226	0.053	-	-	-	-	-	-	1.11 x 10 <sup>-2</sup>	-	-	-
Sulfur / Sulfuro	1.370	8.700	-	-	-	1.370	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Selenium / Selenio	-	-	-	-	0.027	-	-	-	-	-	0.000	-	4.97 x 10 <sup>-4</sup>	-	-	-
Sodium / Sodio	-	-	-	-	1.620	-	0.290	0.860	< 0.1	< 0.1	1.410	0.940	1.340	0.480	-	< 0.1
Lithium / Litio	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.62 x 10 <sup>-4</sup>	-	-	-
Magnesium / Magnesio	-	-	-	-	4.340	-	-	-	-	-	-	-	1.500	-	-	-
Chromium / Cromo	-	-	-	0.578	< 0.005	-	-	-	-	-	-	-	2.65 x 10 <sup>-4</sup>	-	-	-
Nickel / Niquel	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.25 x 10 <sup>-4</sup>	-	-	-
Zinc	0.002	0.033	-	0.116	< 0.005	-	-	-	-	-	-	-	1.10 x 10 <sup>-2</sup>	-	-	-
Rubidium / Rubidio	-	-	-	0.076	-	-	-	-	-	-	-	-	5.43 x 10 <sup>-4</sup>	-	-	-
Strontium / Estroncio	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.53 x 10 <sup>-2</sup>	-	-	-

f. = fresca

d. = deshidratada

p.f. planta floreciendo

p.i. = planta inmadura

c/c. = con cáscara

s.c. = sin cáscara

Los datos están expresados en mg-g-1. Al-anizi, Hellyer, y Zhang (2014); Amaglo et al. (2010); Asiedu-Gyekye et al. (2014); Dhakar et al. (2011); Freiburger et al. (1998); Nambiar y Seshadri (2001)

#### Anexo 4. Contenido de aminoácidos en partes de Moringa oleifera.

Ácidos grasos / Ácidos grasos		Oil / Aceite	Root / Raíz	Root f.p. / Raíz p.f.	Stem / Tallos	Stem f.p. / Tallos p.f.	Petioles f.p. / Peciolos p.f.	Leaf / Hojas	Leaf f.p. / Hojas p.f.	Flower / Flor	Pod gr. / Vaina v2	Pod m. / Vaina m2	Seed w/h / Semilla c/c	Seed p. / Semilla s/c
Ácido mirístico / C.A. mirístico	C14:0	-	0,46	0,42	0,6	0,62	0,66	0,13	0,14	0,16	0,34	0,1	0,07	0,11
Ácido palmítico / C.A. palmítico	C16:0	6,45	39,4	41,3	47,8	47,1	37,3	26	25,3	33,6	48	9,16	8,4	9,05
Ácido palmítico / C.A. palmítico	C16:1	0,97	0,53	1,68	0,37	1,35	0,63	0,56	0,55	0,22	0,97	1,44	1,91	2,27
Ácido palmítico / C.A. palmítico	C17:0	-	1,3	1,2	0,96	1,45	1,46	0,46	0,25	0,41	0,97	0,1	0,09	0,09
Ácidoheptadecanoico/ C.A. heptadecanoico	C17:1	-	0,03	0,12	0	0	0	0	0	0,28	0	0,03	0,01	0,06
Ácidoheptadecanoico/ C.A. heptadecanoico	C18:0	5,5	7,38	6,03	11,5	9,21	4,79	4,33	3,02	5,54	13,4	5,32	9,92	4,26
Ácido esteárico / C.A. esteárico	C18:1	±0,5	30,6	37	16,4	18,6	17,3	14	6,81	29	34,6	78,9	74,5	80,6
Ácido oleico / C.A. oleico	C18:2	1,27	10,8	9,58	16,5	15,9	21,4	15,9	11,4	18,6	0,02	1,16	0,69	0,66
Ácido linoléico / C.A. linoleico	C18:3	0,3	2,26	1,42	4	3,9	16,2	37,3	50,8	10,6	0,02	0,5	0,23	0,16
Ácido linoléico / C.A. linoleico	C20:0	4,08	5,02	0,92	1,87	1,67	0,11	0,11	1,27	1,23	1,54	3,02	3,86	2,58
Ácido linoléico / C.A. linoleico	C20:1	1,68	2,21	0,3	0,04	0,05	0,05	0,05	0,11	0,33	0,03	0,17	0,33	0,17
Ácido araquídico / C.A. araquídico	C22:0	6,16	0,02	0,01	0,04	0,05	0,05	0,05	0,01	0,01	0,03	0,03	0,01	0
Ácido eicosenoico / C.A. eicosenoico	C24:0	0,02	0,02	0,1	0	0,05	0,03	0,03	0,01	0,01	0,03	0,03	0,01	0
Ácido behénico / C.A. behénico														
Ácido lignocérico / C.A. lignocérico														

d. = deshidratado

f. = fresco

Los datos se expresan en mg · g-1. Dhakar y col. (2011); Freiburger y col. (1998); Makkar y Becker (1996)

## Anexo 5. Contenido de ácidos grasos en diferentes partes de Moringa oleifera

Aminoácido / Aminoácido	Hoja d <sub>3</sub> / Hoja d <sub>3</sub>	Hoja d <sub>2</sub> / Hoja d <sub>2</sub>	Hoja f <sub>1</sub> / Hoja f <sub>1</sub>	Hoja d <sub>1</sub> / Hoja d <sub>1</sub>	Pod f <sub>1</sub> / Vaina f <sub>1</sub>
Aspártico / Aspartato	10,6	12,8	--	--	--
Glutámico / Glutamato	11,69	20,9	--	--	--
Serina / Serina	4,78	7,19	--	--	--
Glicina / Glicina	6,12	8,38	--	--	--
Histidina / Histidina	3,12	3,78	1,498	6,13	1,1
Arginina / Arginina	6,96	14,5	4,066	13,25	3,6
Treonina / Treonina	5,05	7,09	1,177	11,88	3,9
Alanina / Alanina	6,59	11	--	--	--
Prolina / Prolina	5,92	10,2	--	--	--
Tirosina / Tirosina	4,34	8,33	--	--	--
Valina / Valina	6,34	10,8	3,745	10,63	5,4
Metionina / Metionina	2,06	2,34	1,177	3,5	1,4
Isoleucina / Isoleucina	5,18	7,82	2,996	8,25	4,4
Leucina / Leucina	9,86	15,5	4,922	19,5	6,5
Fenilalanina / Fenilalanina	6,24	10,5	3,103	13,88	0,4
Lisina / Lisina	6,61	9,17	3,424	13,25	1,5
Cisteína / Cisteína	1,19	3,87	--	--	--
Triptófano / Triptófano	2,13	7,53	1,07	4,25	0,8

fp. = planta con flores

inmadura

w / h = con cáscara

g = verde

**Datos expresados en g · 100 g<sup>-1</sup>.Freiberger y col. (1998); Nambiar y Seshadri (2001).**

pf = planta floreciendo

inmadura

c / c = con cáscara

v = verde

**Los datos están expresados en g · 100 g<sup>-1</sup>. Freiberger y col. (1998);  
2Nambiar y Seshadri (2**

ip = planta

pag. = pelado

m = maduro.

pi = planta

s / c = sin cáscara

m = madura.

### Anexo 6. Ficha de observación

<b>“EFICACIA ANTIBACTERIANA DE LA MORINGA OLEÍFERA SOBRE EL <i>ENTEROCOCCUS FAECALIS</i> ATCC®29212 (ESTUDIO IN VITRO), HUÁNUCO - 2022”</b>			
N° Replica en placa Petri	Grupos Experimentales		Grupo control
	Tiempo (hrs):	Halo de inhibición de las sustancias de prueba frente a <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 en milímetros (mm) a las 24 horas en agar Mueller Hinton	
	M1: Pasta de Moringa al 100%	M2: Pasta de Moringa al 50%	M3: Pasta de Hidróxido de calcio al 100%
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			

## Anexo 7



UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN  
LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR –  
UNHEVAL  
MARCHA FITOQUÍMICA

Muestra: Extracto de *Moringa oleifera*

GRUPO 1: Marca: <b>Bionaturista</b>			
REACTIVO	CONSTITUYENTE FITOQUÍMICO	REACCIÓN POSITIVA	RESULTADOS
Dragendorff	Alcaloides	rojo o naranja	-
Shinoda	Flavonoides	Naranja o amarillo	+++
Tricloruro Férrico	Compuestos fenólicos	Azul, verde o negro	+++
Burchard	Esteroides y/o triterpenoides	azul o verdoso	++
Gelatina en cloruro de sodio	Taninos	Precipitado blanco	-
Hidróxido de sodio 20%	Flavonoides	Amarillo	++
Cloruro Férrico	Fenoles	Negro, azul	+++
Wagner	Alcaloides	Marrón	+
Cloroformo + Anhidro acético+ Ácido sulfúrico	Esteroides y/o triterpenoides	Verde, azul	+

GRUPO 2: Marca: <b>Fitosana</b>			
REACTIVO	CONSTITUYENTE FITOQUÍMICO	REACCIÓN POSITIVA	RESULTADOS
Dragendorff	Alcaloides	rojo o naranja	-
Shinoda	Flavonoides	Naranja o amarillo	+++
Tricloruro Férrico	Compuestos fenólicos	Azul, verde o negro	+++
Burchard	Esteroides y/o triterpenoides	azul o verdoso	++
Gelatina en cloruro de sodio	Taninos	Precipitado blanco	-
Hidróxido de sodio 20%	Flavonoides	Amarillo	+++
Cloruro Férrico	Fenoles	Negro, azul	+++
Wagner	Alcaloides	Marrón	++
Cloroformo + Anhidro acético+ Ácido sulfúrico	Esteroides y/o triterpenoides	Verde, azul	++

GRUPO 3: Marca: <b>Maravilla Sana</b>			
REACTIVO	CONSTITUYENTE FITOQUÍMICO	REACCIÓN POSITIVA	RESULTADOS
Dragendorff	Alcaloides	rojo o naranja	-
Shinoda	Flavonoides	Naranja o amarillo	+
Tricloruro Férrico	Compuestos fenólicos	Azul, verde o negro	+++
Burchard	Esteroides y/o triterpenoides	azul o verdoso	++
Gelatina en cloruro de sodio	Taninos	Precipitado blanco	-
Hidróxido de sodio 20%	Flavonoides	Amarillo	++
Cloruro Férrico	Fenoles	Negro, azul	+++
Wagner	Alcaloides	Marrón	++
Cloroformo + Anhidro acético+ Ácido sulfúrico	Esteroides y/o triterpenoides	Verde, azul	++

Índice	
-	Ausencia
+	Leve
++	Moderado
+++	Abundante

Tesistas: Soto Rosales, Yenny Elena  
Príncipe Ayala, Wendy Lizbeth



Dr. José Goicochea Vargas  
**Jefe de laboratorio de  
Biotecnología mol. – Unheval**



Mg. Max Salvatierra Alor  
**Encargado de laboratorio de  
Biotecnología mol. - Unheval**

Huánuco, 22 de agosto 2022

# Anexo 8. CERTIFICADO DE LA CEPA ADQUIRIDA A MICROBIOLOGICS EE.UU.



## Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b>  <b>Microorganism Name:</b> Enterococcus faecalis  <b>Catalog Number:</b> 0366  <b>Lot Number:</b> 366-413**	<b>Expiration Date:</b> 2023/7/31  <b>Release Information:</b>  <b>Quality Control Technologist:</b> Kavitha Gobalan  <b>Release Date:</b> 2021/8/25
--	--

### Performance

**Macroscopic Features:**  
 Small to medium, gray/white, translucent, smooth, circular with entire edge  
**Microscopic Features:**  
 Gram positive ovoid cells, mostly in pairs or short chains

**Medium:**  
 SBAP  
**Method:**  
 Gram Stain (1)

**ID System:** MALDI-TOF (1)

See attached ID System results document.

**Other Features/ Challenges: Results**

- (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative
- (1) Bile Esculin Agar: positive
- (1) Streptomycin (300 mcg - Disk Susceptibility): 14 - 20 mm
- (1) Gentamicin (120 mcg - Disk Susceptibility): 16 - 23 mm
- (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): >= 20 mm
- BHIA w/Vancomycin (6 mcg/ml): Sensitive

Amanda Kuperus  
 Director of Quality Control AUTHORIZED SIGNATURE

**\*\*Disclaimer:** The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.



⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information. Individual products are traceable to a recognized culture collection.

(\*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.



(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.



TESTING CERT #2655.01

**Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results**



**Meaning of Score Values**

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 – 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 – 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 – 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

**Meaning of Consistency Categories (A - C)**

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high- confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Run Creation Date/Time: 2021-08-17T15:58:18.619 KG

Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
D7 (+++) (A)	366-413	Enterococcus faecalis	2.40

Comments:

n/a

# ANEXO 9. CERTIFICACIÓN DEL PERSONAL DE LABORATORIO



**0936-2022**

**COLEGIO DE BIÓLOGOS DEL PERÚ  
CONSEJO REGIONAL VII LIMA**

**CERTIFICADO DE  
HABILIDAD**

LA DECANA DEL CONSEJO REGIONAL VII LIMA DEL COLEGIO DE BIÓLOGOS DEL PERÚ

**CERTIFICA**

QUE EL BIÓLOGO	<b>JUAREZ VILCAPUMA, Oniel Elias</b>
CON FECHA DE COLEGIATURA	<b>30 DE ENERO DE 2019</b>
CON REGISTRO	<b>CBP N° 14090</b>
HABILITADO AL	<b>31 DE JULIO DE 2023</b>

DE CONFORMIDAD CON LO DISPUESTO EN EL ARTÍCULO 05 DE LA LEY N° 28847 LEY DEL TRABAJO DEL BIÓLOGO Y DEL ARTÍCULO 06 DE SU REGLAMENTO APROBADO MEDIANTE DECRETO SUPREMO N° 025-2008-SA, SE ENCUENTRA HÁBIL Y EN CONSECUENCIA ESTA AUTORIZADA PARA EJERCER LA PROFESIÓN DE BIÓLOGO.

LIMA, 18 DE JUNIO DE 2022



**COLEGIO DE BIÓLOGOS DEL PERÚ**  
Rosa María del Rosario Villarreal  
Decana Consejo Regional VII Lima  
PERIODO 2021 - 2023  
CBP 07860



*Biología*

ESTATUTO CBP TÍTULO II CAP. II ART. 18 Inc. k) Cumplir puntualmente con las cotizaciones mensuales de colegiado.  
La falta de pago de cuotas por tres meses consecutivos implica la pérdida de la condición de habilitado

## Anexo 10. CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DEL INSTRUMENTO



LABORATORIO DE CALIBRACIÓN ACREDITADO POR EL  
ORGANISMO DE ACREDITACIÓN INACAL – DA  
CON REGISTRO N° LC - 001



Registro N° LC - 001

### CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN N° 1AD-0632-2023



Expediente : 1A14799  
Página 1 de 3

- Fecha de emisión : 2023-05-16
1. **Solicitante** : **SCIENTIFIC QUALITY S.A.C.**
2. **Dirección** : Mza. N Lote 1 Bar. 4 Sector 2 Parcela - Subpar - Villa El Salvador - Lima - Lima
3. **Instrumento** : **PIE DE REY**
- **Marca / Fabricante** : No indica
  - **Modelo** : No indica
  - **Número de serie** : No indica
  - **Procedencia** : No indica
  - **Código de identificación** : SQ-LM-VD-01 (\*)
  - **Intervalo de indicación** : 0 mm a 150 mm
  - **Resolución** : 0,01 mm
  - **Tipo de indicación** : Digital
  - **Código de fábrica** : No indica
  - **Ubicación** : No indica
4. **Lugar de calibración** : Laboratorio Dimensional de METROIL S.A.C. - Sede Lima
5. **Fecha de calibración** : 2023-05-15
6. **Método de calibración**  
La calibración se efectuó por comparación directa, según el PC-012 Edición 5 "Procedimiento de calibración de Pie de Rey" del INDECOPI-SNM.

7. **Trazabilidad**

Los resultados de la calibración realizada tienen trazabilidad a los patrones nacionales del INACAL - DM, en concordancia con el Sistema Internacional de Unidades de Medida (SI) y el Sistema Legal de Unidades de Medida del Perú (SLUMP)

Código	Instrumento patrón	Certificado de calibración
IL-160	Bloque patrón de longitud Grado 0	LLA-206-2021 / INACAL-DM
IL-205	Bloque patrón de longitud Grado 0	LLA-280-2021 / INACAL-DM
IL-176	Anillo patrón Incertidumbre de 0,7 µm	LLA-511-2022 / INACAL-DM
IL-178	Varilla patrón Incertidumbre de 0,3 µm	LLA-174-2023 / INACAL-DM
IT-449	Termómetro de contacto Incertidumbre de 0,07 °C	1AT-1744-2022 / METROIL S.A.C.

8. **Condiciones de calibración**

Temperatura ambiental : Inicial : 20,3 °C Inicial : 20,4 °C  
Humedad relativa : Inicial : 54,5 % H.R. Inicial : 53,6 % H.R.

Los resultados del certificado son válidos sólo para el objeto calibrado y se refieren al momento y condiciones en que se realizaron las mediciones y no deben utilizarse como certificado de conformidad con normas de producto.

Se recomienda al usuario recalibrar el instrumento a intervalos adecuados, los cuales deben ser elegidos con base en las características del trabajo realizado, el mantenimiento, conservación y el tiempo de uso del instrumento.

METROIL S.A.C. no se responsabiliza de los perjuicios que pueda ocasionar el uso inadecuado de este instrumento o equipo después de su calibración, ni de una incorrecta interpretación de los resultados de la calibración aquí declarados.

Este certificado de calibración es trazable a patrones nacionales o internacionales, los cuales realizan las unidades de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI).

Este certificado de calibración no podrá ser reproducido parcialmente, excepto con autorización previa por escrito de METROIL S.A.C.

El certificado de calibración no es válido sin la firma del responsable técnico de METROIL S.A.C.

**JORGE L. GUTIÉRREZ VILLAGÓMEZ**  
Laboratorio de Calibración

**METROLOGÍA E INGENIERÍA LINO S.A.C.**

Lima: Av. Venezuela N° 2040 Lima 01 - Lima - Perú E-mail: ventas@metroil.pe Atención al Cliente: 975 193 739  
Trujillo: Unidad móvil 1 E-mail: unidadmovil1@metroil.com.pe Atención al Cliente: 999 048 181  
Arequipa: Urb. Transportistas Mz. B Lote 3, Paucarpata, Arequipa E-mail: ventasarequipa@metroil.pe Atención al Cliente: 975 432 290 / (054) 607-843  
Central: (511) 713-9080 / (511) 713-5656 Consulta Técnica: 975 432 445 / 965 403 256 Web: www.metroil.com.pe



## 9. Resultados

Error de referencia inicial ( I ) = 0  $\mu\text{m}$

### Error de indicación del pie de rey para mediciones de exteriores

Valor patrón ( mm )	Indicación promedio del pie de rey ( mm )	Error ( $\mu\text{m}$ )
0,000	0,000	0
1,000	0,913	-87
10,000	9,933	-67
20,000	19,943	-57
40,000	39,933	-67
100,000	99,947	-53
125,000	124,974	-26
150,000	149,974	-26

### Error de contacto de la superficie parcial ( E )

Valor patrón ( mm )	Error ( $\mu\text{m}$ )
1,000	130

### Error de repetibilidad ( R )

Valor patrón ( mm )	Error ( $\mu\text{m}$ )
1,000	0

### Error de cambio de escala de exteriores a interiores ( S<sub>E-I</sub> )

Valor patrón ( mm )	Error ( $\mu\text{m}$ )
25,000	-220

### Error de cambio de escala de exteriores a profundidad ( S<sub>E-P</sub> )

Valor patrón ( mm )	Error ( $\mu\text{m}$ )
25,000	20

### Error de contacto lineal ( L )

Valor patrón ( mm )	Error ( $\mu\text{m}$ )
10,000	70

## METROLOGÍA E INGENIERÍA LINO S.A.C.



**Error de contacto de superficie completa ( J )**

Valor patrón ( mm )	Error ( $\mu\text{m}$ )
20,000	0

**Error por la distancia de cruce de las superficies de medición para interiores ( K )**

Valor patrón ( mm )	Error ( $\mu\text{m}$ )
5,001	0

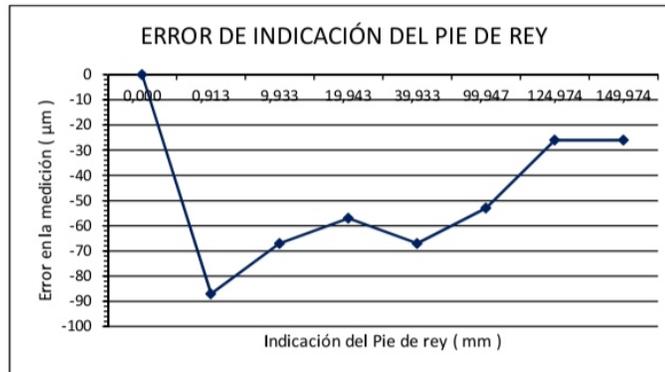
**Incertidumbre de la medición** : (  $153,51\sqrt{L} + 0,004 * L^{1/2}$  )  $\mu\text{m}$

L : Indicación del pie de rey en milímetros ( mm )

**Nota 1:** Error de indicación del pie de rey para medición de interiores = Error de indicación de exteriores + Error de cambio de escala de exteriores a interiores.

**Nota 2:** Error de indicación del pie de rey para medición de profundidad = Error de indicación de exteriores + Error de cambio de escala de exteriores a profundidad.

**Nota 3:** El instrumento tiene un error máximo permisible de  $\pm 30 \mu\text{m}$ , según norma DIN 862.



**10. Observaciones**

- Se colocó en el instrumento una etiqueta autoadhesiva con la indicación "CALIBRADO" y con identificación N° 1AMA-20076
  - La incertidumbre de medición expandida reportada es la incertidumbre de medición estándar multiplicada por el factor de cobertura  $k=2$  de modo que la probabilidad de cobertura corresponde aproximadamente a un nivel de confianza del 95 %.
  - El pie de rey presenta deformidad en sus cuchilla de medición exterior e interior.
- ( \* ) Indicado en una etiqueta adherida al instrumento.

FIN DEL DOCUMENTO

**METROLOGÍA E INGENIERÍA LINO S.A.C.**

Lima: Av. Venezuela N° 2040 Lima 01 - Lima - Perú E-mail: ventas@metroil.pe Atención al Cliente: 975 193 739  
Trujillo: Unidad móvil 1 E-mail: unidadmovil1@metroil.com.pe Atención al Cliente: 999 048 181  
Arequipa: Urb. Transportistas Mz. B Lote 3, Paucarpata, Arequipa E-mail: ventasarequipa@metroil.pe Atención al Cliente: 975 432 290 / (054) 607-843  
Central: (511) 713-9080 / (511) 713-5656 Consulta Técnica: 975 432 445 / 965 403 256 Web: www.metroil.com.pe

# Anexo 11. LICENCIA DEL LABORATORIO



VILLA EL SALVADOR  
Municipalidad

**AUTORIZACIÓN N°** 027959  
**EXPEDIENTE N°** 05684-2023  
**RESOLUCIÓN N°** 3151-2023

**SUJETO A FISCALIZACIÓN PERMANENTE**

**LICENCIA DE FUNCIONAMIENTO COMERCIAL, INDUSTRIAL, DE SERVICIOS Y ACTIVIDADES PROFESIONALES**

**BASE LEGAL: LEY 27972LOM.; LEY 28976 - LMLF; DS N°066-2007-PCM; Ley N° 27157 - LRE; TUPA - MVES**

LA MUNICIPALIDAD DE VILLA EL SALVADOR OTORGA LA PRESENTE AUTORIZACIÓN MUNICIPAL DE FUNCIONAMIENTO HABIENDO CUMPLIDO CON TODOS LOS REQUISITOS CONFORME A LEY

---

**A FAVOR DE:** SCIENTIFIC QUALITY S.A.C.

**RAZÓN SOCIAL :** AGRUP PACHAC. IV ETAPA PARC SUB PARC B SECTOR 02 BARRIO 04 MANZANA N LOTE 01 2DO PISO

**DOMICILIO COMERCIAL :** AREA: 123.95 m2

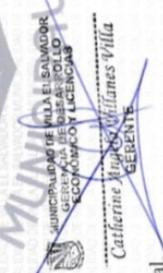
**R.U.C. :** 20605679341

**GIRO(S) AUTORIZADO(S) :** ENSAYOS DE CALIFICACIÓN Y FIABILIDAD (ALIMENTOS)

**HORARIO DE ATENCIÓN:** LUNES A DOMINGO: 08:00 A 19:00

Villa El Salvador, ..... de ..... del 20.....

**FORMATO N° 024336**



**Catherine Rojas Williams-Villa**  
GERENTE

**NOTA:**

- La presente autorización es personal e intransferible.
- No autoriza el uso de la vía pública ni el retiro municipal.
- Al cierre definitivo, tramitar cese de actividad comercial, dentro de los 30 días.
- Prohibida la instalación de máquinas tragamonedas, bajo pena de cancelación de la presente autorización - Ley N° 27153

**EXHIBIR EN LUGAR VISIBLE PARA EL CONTROL Y/O FISCALIZACIÓN MUNICIPAL**

## Anexo 12. INFORME DE ENSAYO

### INFORME DE ENSAYO N° SQ230428.01



SOLICITUD DE ENSAYO	: SQE 230331.01
SOLICITANTE	: YENNY ELENA SOTO ROSALES / WENDY LIZBETH PRÍNCIPE AYALA
DIRECCIÓN DEL SOLICITANTE	: No indica
ORIGEN DE LA MUESTRA	: Proporcionado por el cliente y preparado por Scientific Quality S.A.C.
PROCEDIMIENTO DE MUESTREO	: No aplica
IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA	: M1: Pasta de Moringa al 50% M2: Pasta de Moringa al 50% M3: Pasta de Hidróxido de calcio al 100%
CANTIDAD Y DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA	: M1: Un (01) frasco de 11g M2: Un (01) frasco de 11g M3: Un (01) frasco de 11g
LUGAR, FECHA Y HORA DE MUESTREO	: No aplica
FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN	: 04 de abril del 2023/ 10:00h
CONDICIONES A LA RECEPCIÓN	: Temperatura ambiente
FECHAS DE INICIO DEL ANÁLISIS	: 17 de mayo del 2023
FECHAS DE TÉRMINO DEL ANÁLISIS	: 23 de mayo del 2023
FECHA DE EMISIÓN	: 25 de mayo del 2023

### RESULTADOS DE ENSAYO MICROBIOLÓGICO: ANTIBIOGRAMA

N° Replica en placa Petri	Halo de inhibición de las sustancias de prueba frente a <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 en milímetros (mm) a las 24 horas en agar Mueller Hinton		
	M1: Pasta de Moringa al 100%	M2: Pasta de Moringa al 50%	M3: Pasta de Hidróxido de calcio al 100%
1	12,30	10,10	4,61
2	13,14	12,11	5,81
3	13,41	10,33	4,95
4	12,52	10,62	6,35
5	11,50	10,14	6,51
6	13,08	11,35	5,08
7	10,63	9,05	4,45
8	12,20	10,81	5,85
9	11,51	8,70	5,19
10	12,72	11,14	5,92
11	14,35	11,67	5,35
12	12,69	9,55	5,26
13	13,07	10,14	6,39
14	12,89	12,53	5,65
15	11,41	10,40	5,21
16	13,66	10,82	6,19

Los resultados de los ensayos corresponden solo a la(s) muestra(s) ensayada(s). Los resultados no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Queda prohibida la

17	11,57	11,68	6,10
18	11,44	11,85	4,52
19	12,39	10,21	5,36
20	12,50	10,35	7,08

N° Replica en placa Petri	Halo de inhibición de las sustancias de prueba frente a <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 en milímetros (mm) a las 48 horas en agar Mueller Hinton		
	M1: Pasta de Moringa al 100%	M2: Pasta de Moringa al 50%	M3: Pasta de Hidróxido de calcio al 100%
1	12,17	10,08	4,56
2	13,08	11,95	5,70
3	13,28	10,12	4,87
4	12,48	10,48	6,24
5	11,46	10,00	6,40
6	13,03	11,24	5,00
7	10,44	9,01	4,39
8	12,15	10,53	5,79
9	11,37	8,64	5,11
10	12,54	10,96	5,80
11	14,31	11,44	5,26
12	12,47	9,38	5,19
13	13,03	10,05	6,30
14	12,71	12,50	5,52
15	11,34	10,12	5,14
16	13,45	10,58	6,11
17	11,36	11,47	5,95
18	11,35	11,63	4,43
19	12,23	9,97	5,28
20	12,34	10,11	7,00

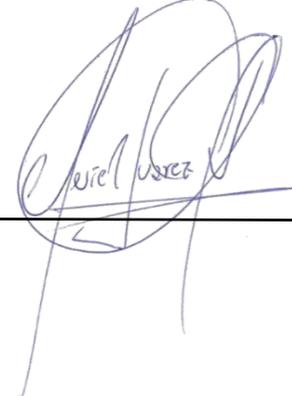


Los resultados de los ensayos corresponden solo a la(s) muestra(s) ensayada(s). Los resultados no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Queda prohibida la

N° Replica en placa Petri	Halo de inhibición de las sustancias de prueba frente a <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 en milímetros (mm) a las 72 horas en agar Mueller Hinton		
	M1: Pasta de Moringa al 100%	M2: Pasta de Moringa al 50%	M3: Pasta de Hidróxido de calcio al 100%
1	12,11	10,04	4,52
2	13,04	11,86	5,64
3	13,22	10,08	4,82
4	12,44	10,46	6,17
5	11,43	9,95	6,30
6	12,99	11,15	4,93
7	10,35	8,99	4,36
8	12,11	10,49	5,74
9	11,23	8,58	5,04
10	12,50	10,91	5,73
11	14,26	11,35	5,19
12	12,35	9,31	5,10
13	12,99	10,02	6,21
14	12,56	12,48	5,46
15	11,28	10,12	5,05
16	13,38	10,49	6,08
17	11,27	11,47	5,86
18	11,29	11,58	4,37
19	12,14	9,89	5,17
20	12,21	10,04	6,94

## OBSERVACIONES:

1. : Los resultados se aplican a la muestra tal como se recibió en el laboratorio.
2. Las pastas de Moringa al 50% y 100% se realizó a partir del producto *Moringa oleifera* en cápsulas. Marca "FITOSANA". Lote: 200971 F.V. 09/07/2023.
3. La pasta de hidróxido de calcio al 100% fue preparada a partir del producto Hidróxido de calcio. Marca "PREVEST DENPRO". Lote: PK21222196.
4. Basado en artículo de Escalante M. (2016) Sensibilidad de *Listeria monocytogenes* y *Listeria ivanovii* frente al aceite esencial de *Cocos nucifera*. REBIOL. 36(1): 38 – 44. Enero – Junio.

Los resultados de los ensayos corresponden solo a la(s) muestra(s) ensayada(s). Los resultados no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Queda prohibida la

## Anexo 13. FICHA TÉCNICA DE STANDARD DE McFarland 0.5 SULFATO DE BARIO



### McFARLAND BARIUM SULPHATE STANDARD

Standard di torbidità per la preparazione di sospensioni di microrganismi.  
Turbidity standard for preparing suspensions of microorganisms.

#### DESCRIZIONE

Gli standard McFarland vengono utilizzati come standard di torbidità nella preparazione delle sospensioni di microrganismi ed in particolare modo nella preparazione degli inoculi batterici per l'esecuzione dell'antibiogramma.

#### PRINCIPIO

Gli standard di torbidità sono composti da sostanze chimiche che miscelate precipitano formando una soluzione di riproducibile torbidità.  
Gli standard McFarland vengono preparati aggiungendo acido solforico ad una soluzione acquosa di cloruro di bario.  
La miscela porta alla formazione di precipitato di solfato di bario.  
Per ciascun standard McFarland in tabella 1 è riportata la densità corrispondente espressa in cellule/ml. La concentrazione batterica dipende dalla dimensione dei microrganismi. I valori riportati nella tabella 1 rappresentano valori medi di concentrazione validi per i batteri. Per i lieviti, che hanno dimensioni maggiori, bisogna dividere gli stessi numeri per 30.

#### PROCEDURA

Prima dell'uso, agitare vigorosamente lo standard di torbidità, utilizzando un vortex meccanico.  
Comparare la torbidità di una sospensione batterica preparata alla torbidità dello standard, in presenza di una luce adeguata.  
Alternativamente, utilizzare lo standard di torbidità per calibrare un turbidimetro elettrometrico.

#### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

L'utilizzo degli standard McFarland consente la preparazione di inoculi standardizzati da utilizzare nelle procedure per l'esecuzione dell'antibiogramma.

#### DESCRIPTION

McFarland standards are used as turbidity standards in the preparation of suspensions of microorganisms and has particular application in the preparation of bacterial inocula for performing antimicrobial susceptibility testing.

#### PRINCIPLE

Turbidity standards are prepared by mixing chemicals that precipitate to form a solution of reproducible turbidity.  
McFarland standards are prepared by adding sulphuric acid to an aqueous solution of barium chloride, which results in the formation of a suspended barium sulphate precipitate.  
For each McFarland standard in table 1 is reported the correspondent density expressed in cells/ml. Bacterial concentration depends on microorganisms size. The mentioned values in table 1 represent average values of concentration valid for bacteria. For yeast, which are larger in size, these numbers should be divided by about 30.

#### PROCEDURE

Vigorously agitate the turbidity standard on a mechanical vortex mixer just before use.  
Using adequate light, compare the turbidity of a bacterial suspension to the turbidity standard.  
Alternatively, use the turbidity standard to calibrate a electrometric turbidimeter.

#### RESULTS INTERPRETATION

McFarland standards will enable the preparation of standardized inocula for use in the performance of standardized antimicrobial susceptibility testing procedures.

Tabella / Table 1.

McFarland Standard	Densità (cellule/ml) / Density (cells/ml)
0.5	1.5 x 10 <sup>8</sup>
1.0	3.0 x 10 <sup>8</sup>
2.0	6.0 x 10 <sup>8</sup>
3.0	9.0 x 10 <sup>8</sup>
4.0	12.0 x 10 <sup>8</sup>

#### BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAPHY

1. Mc Farland, 1907. J.Am.Med.Assoc.49:1176.
2. Patricia M. Tille. 2014. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology, 13<sup>th</sup> edition by Mosby, Inc., an affiliate of Elsevier Inc.
3. CLSI M7-A9, 2012. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically.
4. CLSI M11-A7, 2007. Methods for dilution antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria.

#### PRESENTAZIONE / PRESENTATION

Prodotto / Product	REF	Σ
McFARLAND 0.5 BARIUM SULPHATE STANDARD	80400	1
McFARLAND 1.0 BARIUM SULPHATE STANDARD	80401	1
McFARLAND 2.0 BARIUM SULPHATE STANDARD	80402	1
McFARLAND 3.0 BARIUM SULPHATE STANDARD	80403	1
McFARLAND 4.0 BARIUM SULPHATE STANDARD	80404	1
McFARLAND STANDARD SET (McFARLAND 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0)	80405	5

#### TABELLA DEI SIMBOLI / TABLE OF SYMBOLS

Codice del lotto Batch Code	Contenuto sufficiente per <n> saggi Content sufficient for <n> tests	Fabbricante Manufacturer	Non riutilizzare Do not reuse
--------------------------------	---	-----------------------------	----------------------------------

<b>REF</b>	Numero di catalogo Catalogue Number	 Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso Attention, see instructions for use	 Fragile, maneggiare con cura Fragile, handle with care
------------	--	---	---



**LIOFILCHEM® S.r.l**

## Anexo 14. CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DEL PROYECTO



### CONSTANCIA

Mg. CD. Cesar Lincoln Gonzales Soto  
Asesor de Tesis  
E.P. Odontología – UNIVERSIDAD NACIONAL “HERMILIO VALDIZÁN”  
Presente.

Estimado:

Es grato dirigirme a usted para comunicarle que las señoritas Wendy Lizbeth Príncipe Ayala y Yenny Elena Soto Rosales con DNI 74756658 y DNI 72922945, respectivamente, bachilleres en Odontología de la E.P. de Odontología, realizó las pruebas microbiológicas del estudio experimental in vitro titulado: **“EFICACIA ANTIBACTERIANA DE LA MORINGA OLEÍFERA SOBRE EL ENTEROCOCCUS FAECALIS ATCC 29212 (ESTUDIO IN VITRO), HUÁNUCO - 2022”**. Dicho estudio corresponde a su tesis para obtener el título de Cirujano dentista.



Toda la experimentación y recolección de datos fue realizada entre los días 17 al 23 de mayo del presente año y fue supervisado en su totalidad por mi persona, cumpliendo con todos los protocolos de bioética, bioseguridad y control de infecciones requeridos.

Sin otro particular.

Atentamente



Lima, 25 de mayo del 2023

Dirección: Av. María Reiche Mz.N Lote 1. Villa El Salvador. Lima. Celular: 999365647. Correo electrónico: laboratorio@scientificquality.org. Web:

## ANEXO 15. ELIMINACIÓN DE DESECHOS DEL LABORATORIO.



### CONSTANCIA

La empresa SCIENTIFIC QUALITY S.A.C. hace constar que se ha eliminado adecuadamente los residuos biológicos del trabajo de Tesis **“EFICACIA ANTIBACTERIANA DE LA MORINGA OLEÍFERA SOBRE EL *ENTEROCOCCUS FAECALIS* ATCC 29212 (ESTUDIO IN VITRO), HUÁNUCO - 2022”**

Como indica nuestro Instructivo de Bioseguridad y eliminación de residuos biológicos del Laboratorio de microbiología I01-P10-GL, el cual indica que los materiales de ensayo biocontaminados se dividirán en materiales de vidrio y descartables. Ambos serán colocados, por separado, en bolsas de riesgo biológico y se colocarán en la autoclave para su proceso a 121°C por 30 minutos.

Luego del proceso de autoclavado, los materiales de vidrio se lavarán y pasarán controles de calidad para ser reutilizados. Con respecto al material descartable, al haber sido **minimizado, tratado, eliminando el riesgo significativo**; se realiza su **disposición final** como residuo sólido municipal según Ley N° 27314., Ley General de Residuos Sólidos. Título IV. Artículo 27, inciso 2, el cual dice:



*“27.2 La prestación de servicios de residuos sólidos por pequeñas y microempresas estará restringida a los residuos del ámbito de la gestión municipal, conforme a las disposiciones reglamentarias que al efecto se dicten para promover su participación”.*

Lima, 25 de mayo del 2023



Dirección: Av. María Reiche Mz.N Lote 1. Villa El Salvador. Lima Celular: 999365647. Correo electrónico: laboratorio@scientificquality.org. Web: www.scientificquality.org

## ANEXO 16. FOTOGRAFÍAS DE LA LA PREPARACIÓN DE SUSTANCIAS PARA MARCHA FITOQUIMICA



Figura 1: Imagen referencial de la Moringa oleífera



Figura 2: Capsulas micropulverizadas de Moringa oleífera del laboratorio Bionaturista



Figura 3: Capsulas micropulverizadas de Moringa oleífera del laboratorio Fitosana



Figura 4: Capsulas micropulverizadas de Moringa oleífera del laboratorio Maravilla sana



Figura 5: Presentación de las capsulas de los tres diferentes laboratorios



Figura 6: Balanza electrónica

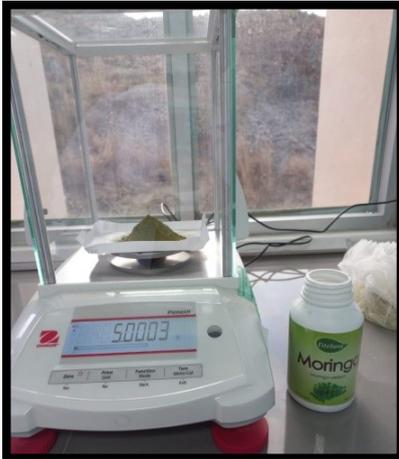


Figura 7: Pesaje de las hojas micropulverizadas

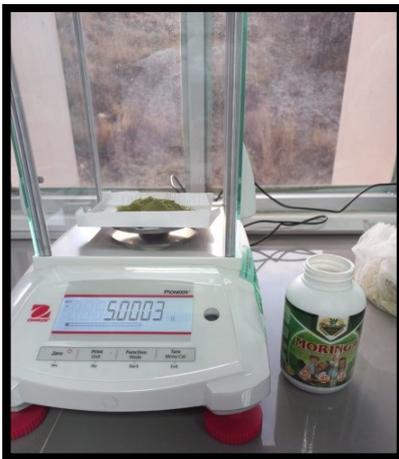


Figura 8: Pesaje de las hojas micropulverizadas

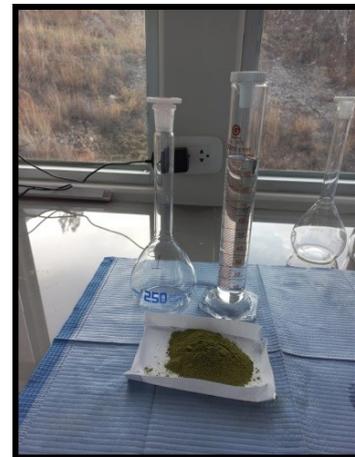


Figura 9: llenado de las hojas al matraz



Figura 10: Dosificación del etanol

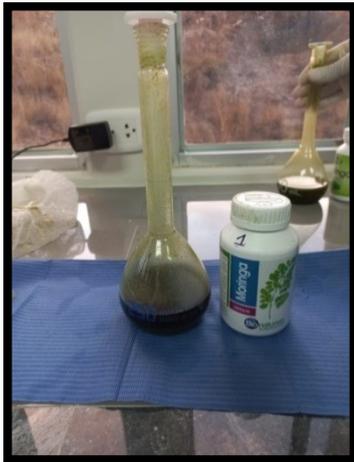


Figura 11: Mezcla de Moringa con etanol



Figura 14: Culminación del filtrado de las sustancias



Figura 12: grupos de mezclas con su respectivo rotulo



Figura 15: Sustancias filtradas



Figura 13: Inicio del filtrado de las sustancias



Figura 16: cubrimiento de las sustancias con papel aluminio



Figura 17: cubrimiento de las sustancias con papel craft sobre el papel aluminio

Figura 19: Refrigeración del laboratorio

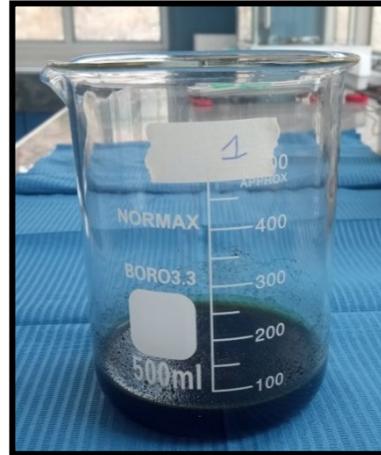


Figura 20: Sustancia de Moringa del grupo Bionaturista



Figura 18: Almacenamiento de las sustancias en refrigeración por un plazo de 14 días

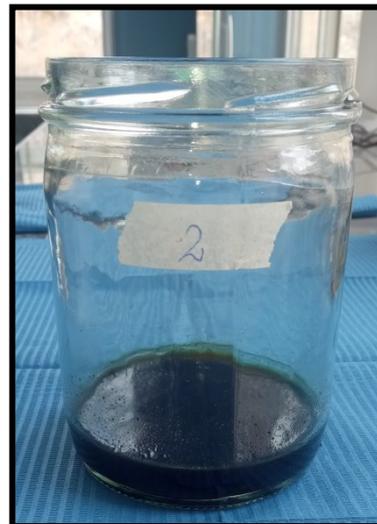


Figura 21: Sustancia de Moringa del grupo Fitosana

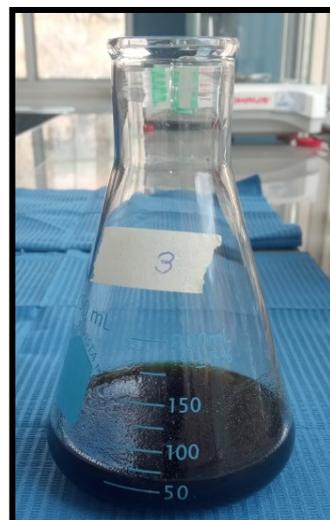


Figura 22: Sustancia de Moringa del grupo Maravilla sana



Figura 23: Horno de secado de aire caliente

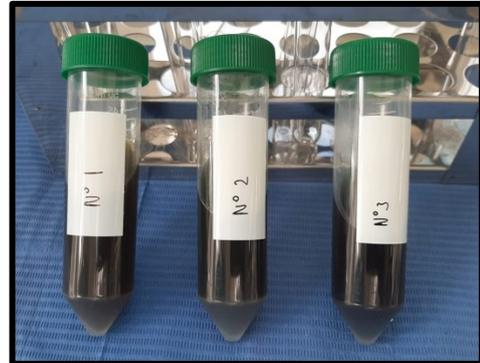


Figura 24: Sustancias finales de Moringa para la caracterización

## Anexo 17. FOTOGRAFÍAS DE LA MARCHA FITOQUÍMICA

### 1. Alcaloides: Reactivo de Dragendorff:



Figura 25: Reactivo de Dragendorff

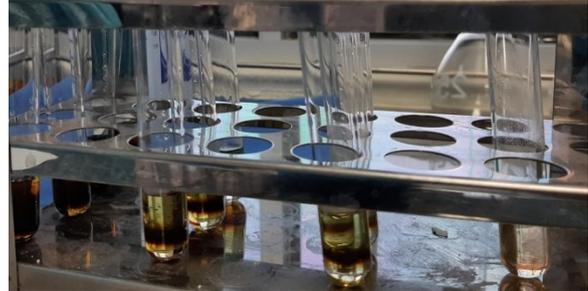


Figura 26: Reacción inicial

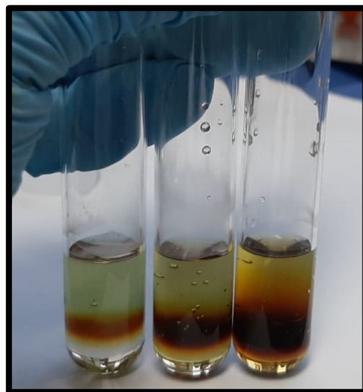


Figura 27: reacción solución - reactivo



Figura 28: Reacción final

### 2. Flavonoides: Reactivo de Shinoda

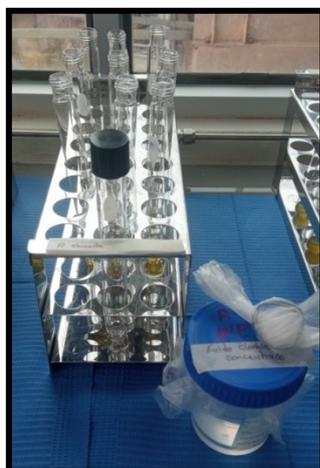


Figura 29: limadura de hierro y Ácido clorhídrico concentrado



Figura 30: Reacción inicial



Figura 31: Burbujeo

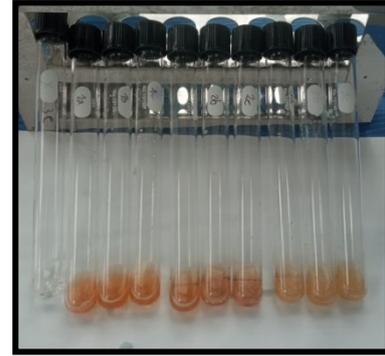


Figura 32: Reacción final

### 3. Compuestos fenólicos: Reactivo de Tricloruro Férrico



Figura 33: Cloruro férrico

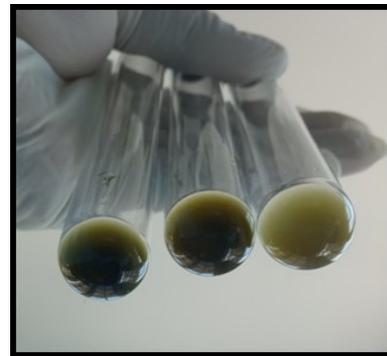


Figura 34: Reacción inicial



Figura 35: Reacción solución - reactivo

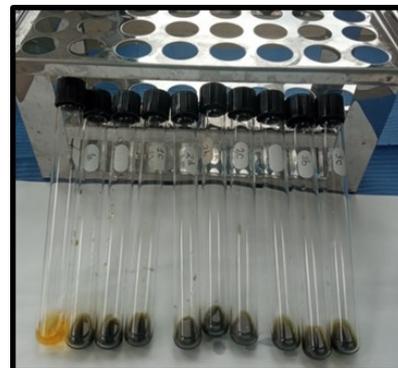


Figura 36: Reacción final

#### 4. Esteroides y/o triterpenoides: Reactivo de Burchard



Figura 37: Reactivo de Burchard



Figura 38: Reacción final

#### 5. Taninos: Reactivo de Gelatina en cloruro de sodio

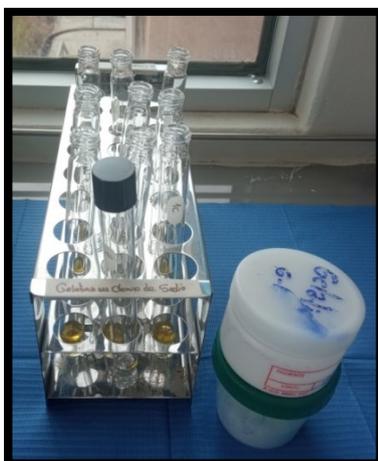


Figura 39: Gelatina y cloruro



Figura 40: Reacción inicial



Figura 41: centrifuga



Figura 42: Reacción final

## 6. Flavonoides: Hidróxido de sodio 20%



Figura 43: Hidróxido de sodio 20%



Figura 44: Reacción inicial



Figura 45: Reacción solución - reactivo



Figura 46: Reacción final

## 7. Fenoles: Cloruro Férrico



Figura 47: Cloruro férrico

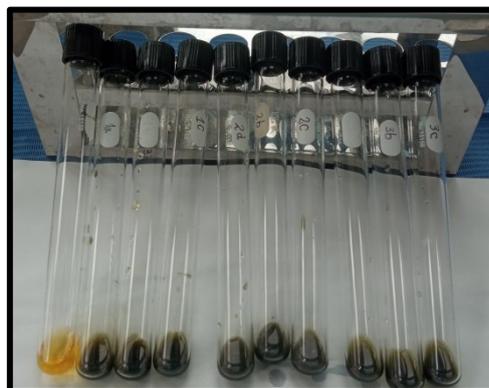


Figura 48: Reacción final

## 8. Alcaloides: Reactivo de Wagner



Figura 49: Reactivo de Wagner

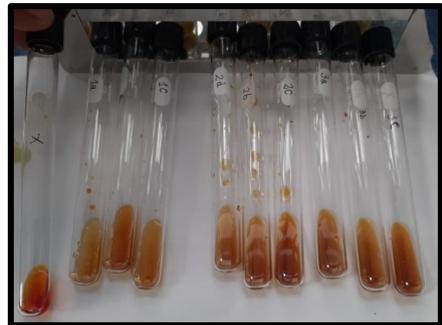


Figura 50: Reacción inicial

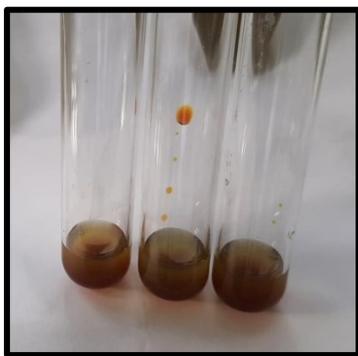


Figura 51: Reacción solución - reactivo



Figura 52: Reacción final

## 9. Esteroides y/o triterpenoides: Cloroformo + Anhídrido acético+ Ácido sulfúrico:



Figura 53: Esteroides y/o triterpenoides

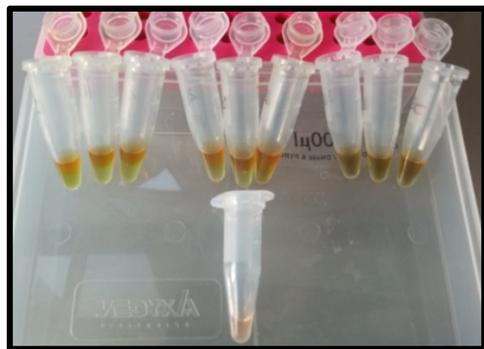


Figura 54: Reacción final

## PARTICIPACIÓN DE TESISTAS



Figura Nª 56:



Figura Nª 55:  
Biólogo Mg. Max, Salvatierra

## Anexo 17. FOTOGRAFÍAS DE EQUIPAMIENTO

**AUTOCLAVE** Figura 57



**INCUBADORA** Figura 58



**REGLA VERNIER DIGITAL** Figura 59



**CONTADOR DE COLONIAS**



**BAÑO TERMOSTÁTICO ANALÍTICA**



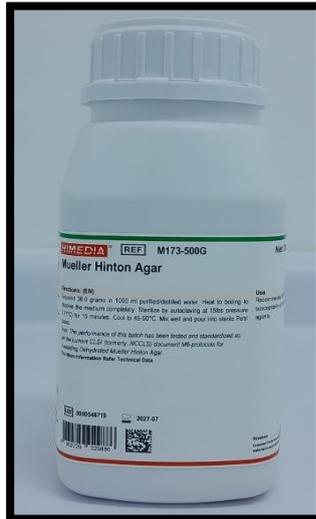
**BALANZA**



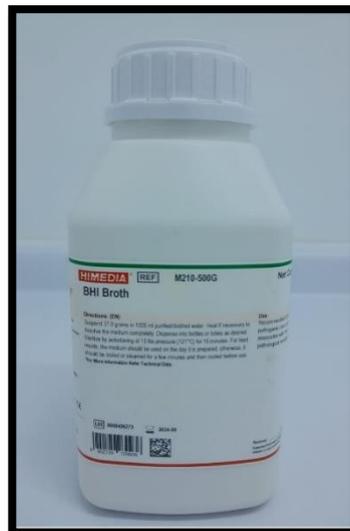
**VORTEX** Figura 63



**1. MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS**



**Agar Mueller Hinton** Figura 64



**Caldo BHI** Figura 65

## 2. CEPA MICROBIANA E INSUMOS PARA ANTIBIOGRAMA

**CEPA DE *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 *Enterococcus faecalis* ATCC 29212**  
**EN SUERO FISIOLÓGICO AL 0.9% y CALDO BHI Agar Mueller Hinton**

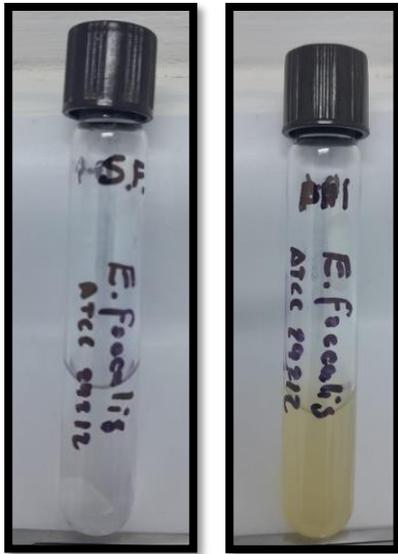


Figura 66



Figura 67

### **Tarjeta de comparación visual para el estándar de turbidez McFarland**

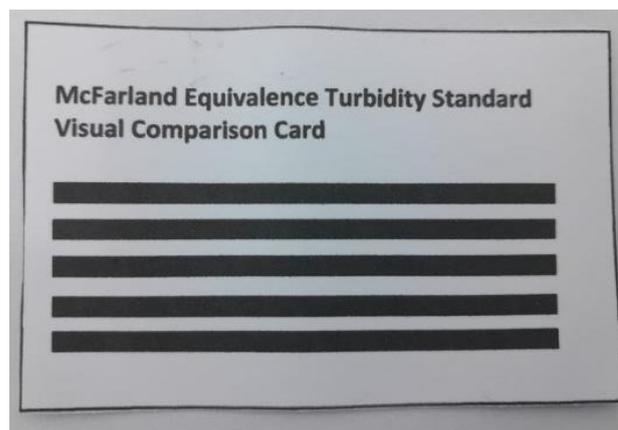


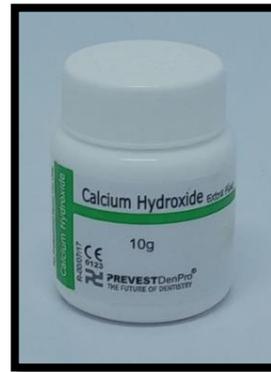
Figura 68

Figura 69



Moringa (*Moringa oleifera*) en cápsulas.

Figura 70



Hidróxido de Calcio. Marca "PREVEST DENPRO"

Figura 71



Pasta de Moringa al 100%

Figura 72



Pasta de Moringa al 50%



Figura 73

Pasta de hidróxido de calcio al 100 %



Figura 74

Suero fisiológico al 0,9%

Figura 75



Agua destilada  
McFarland

Figura 76



Estándar de Sulfato Bario al 0.5 de

### 3. PREPARACION DEL AGAR MUELLER HINTON:

#### PESAJE DEL AGAR MUELLER HINTON

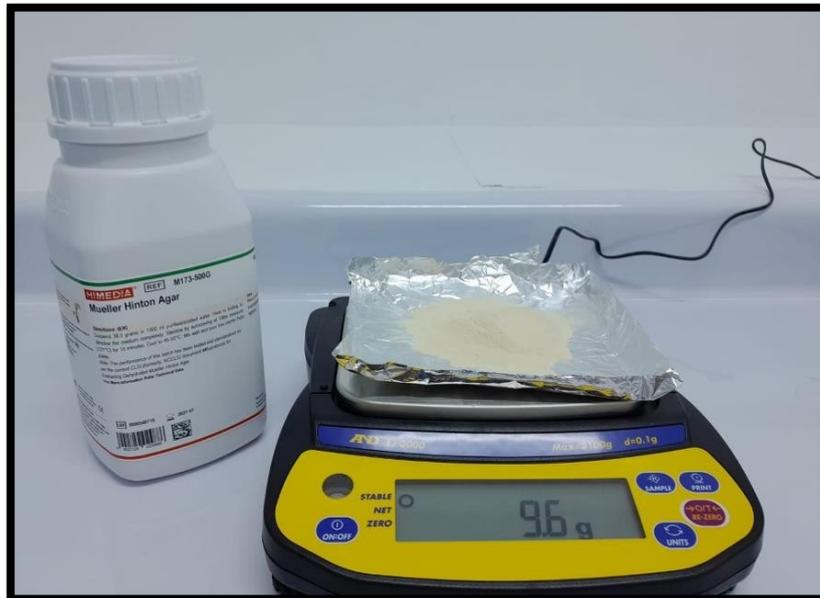


Figura 77



Figura 78

4. Traslado del agar Mueller Hinton (Frasco con medio color ámbar), en esterilidad, a las placas Petri esterilizadas en estufa digital (mechero de bunsen encendido)



Figura 79

Figura80

Figura 81

Figura 82

5. Realización de los pocillos antibiograma (4mm de diámetro) con sacabocado estéril en blanco en las placas de agar Mueller Hinton



Figura 83



Figura 84

6. Preparación, a partir de cultivo en agar de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, del patrón 0,5 de McFarland. Comparación con el estándar comercial.



Figura 85

Figura 86

Figura 87

Figura 88

7. Inoculación con hisopo estéril de la cepa *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 a las placas de agar Mueller Hinton



Figura 89

Figura 90

Figura 91

## 8. PESAJE DE SUSTANCIAS DE PRUEBA

### 9.1 Pesaje en balanza digital de hidróxido de calcio para su preparación como pasta al 100% frente al mechero Bunsen



Figura 92



Figura 93

### 9.2 Pesaje en balanza digital de moringa (*Moringa oleifera*) para su preparación como pasta al 50% y 100% frente al mechero Bunsen



Figura 94



Figura 95

**6. Procedimiento de inoculación de 15mg de las sustancias de prueba (Pasta de moringa al 100%, pasta de moringa al 50% y pasta de hidróxido de calcio al 100%) en esterilidad, frente al mechero de Bunsen**

**Preparación de pasta de moringa al 100% con suero fisiológico al 0,9%**

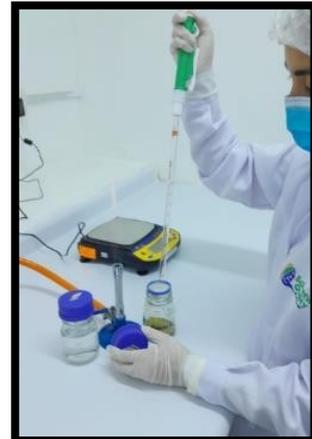
Figura 96



Figura 97



Figura 98



**Inoculación a los pocillos antibiograma con pasta de moringa al 100%**

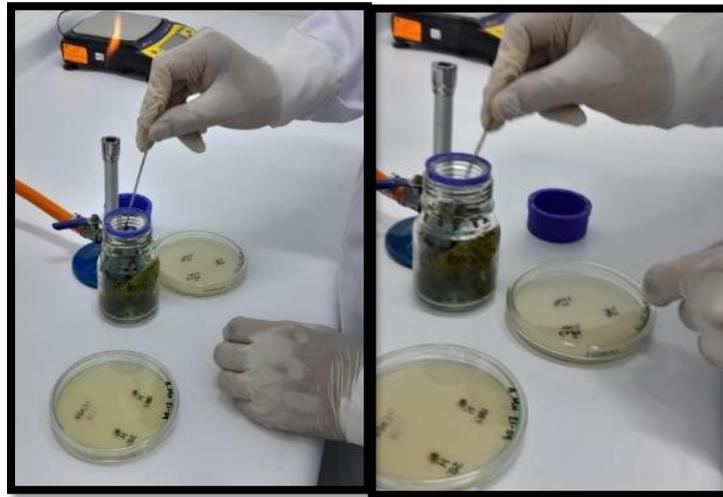


Figura 99

Figura 100

**Inoculación a los pocillos antibiograma con pasta de moringa al 50%**

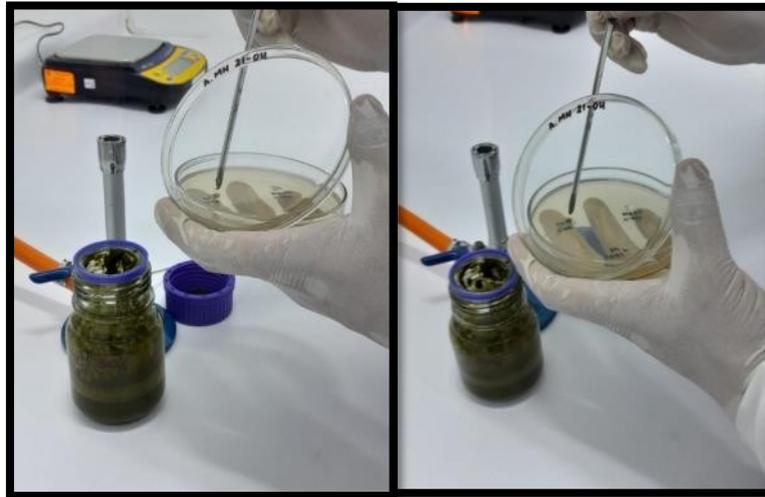


Figura 101

Figura 102

**Inoculación a los pocillos antibiograma con pasta de hidróxido de calcio al 100%**



Figura 103

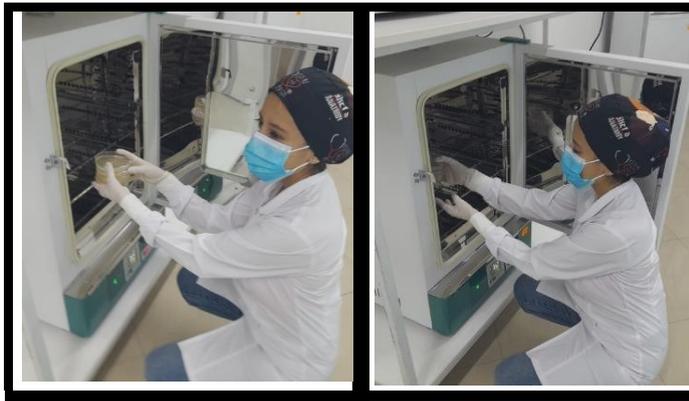
Figura 104

**En balanza analítica (Resolución: 0,1mg), se verificó el peso de 15mg cada pasta de moringa a 100%, pasta de moringa al 50% y pasta de hidróxido de calcio al 100% depositado en cada pocillo antibiograma**



Figura 105

**7. Colocación de las placas Petri con agar Mueller Hinton inoculadas con *Enterococcus faecalis* conteniendo las sustancias de prueba en la incubadora a 37°C por los periodos de tiempo de 24, 48 y 72 horas**



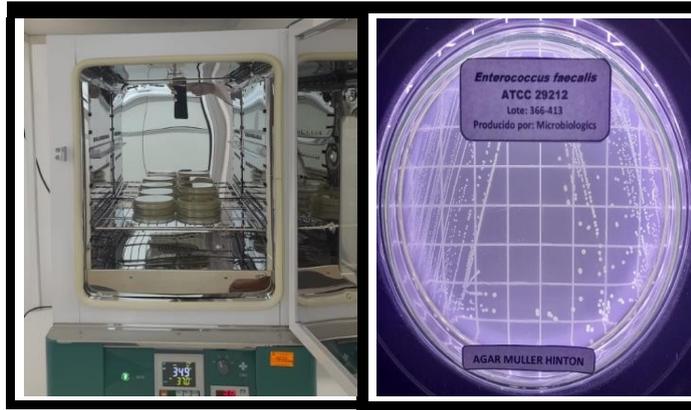


Figura 106, 107

Figura 108,109

## 8. RESULTADOS

Después del tiempo de incubación, las placas Petri se sacan del equipo y se miden con una regla Vernier digital y una lupa de 4 aumentos de un contador de colonias de fondo oscuro que dará contraste para observar detalladamente los halos de inhibición de las sustancias de prueba frente a *Enterococcus faecalis*.

**Medición de halos de inhibición (lectura) de las sustancias de prueba en Agar Mueller Hinton inoculados con *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en contador de colonias con lupa.**



Figura 110

**Fotos de placa Petri con pocillos antibiograma en agar Mueller Hinton inoculados con Pasta de Moringa al 100%, pasta de moringa al 50% y pasta de hidróxido de calcio al 100% frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 a las 72 horas**

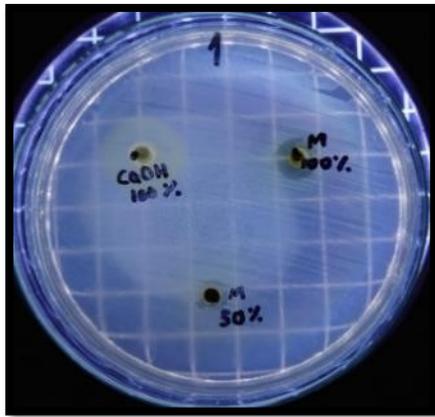


Figura 111

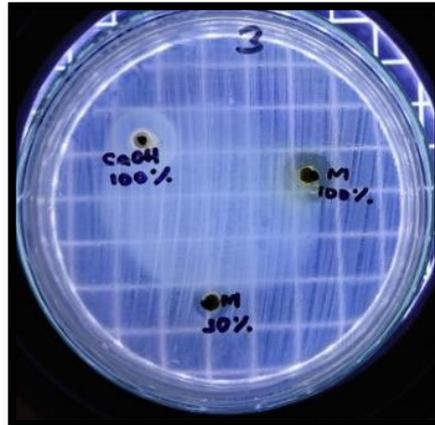


Figura 112

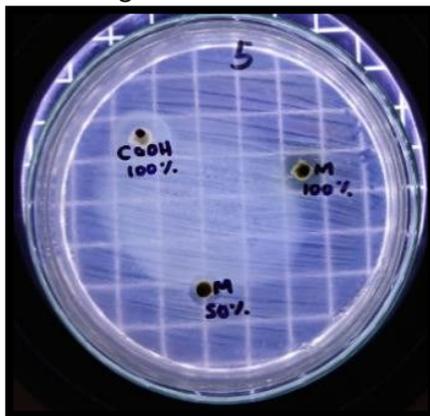


Figura 113

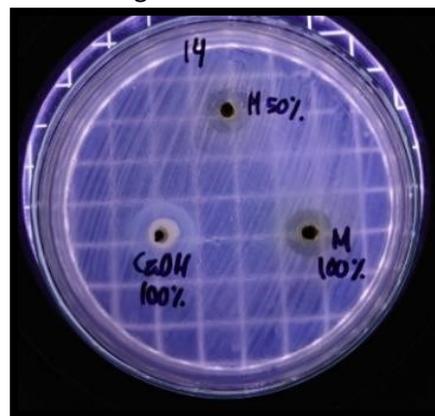


Figura 114

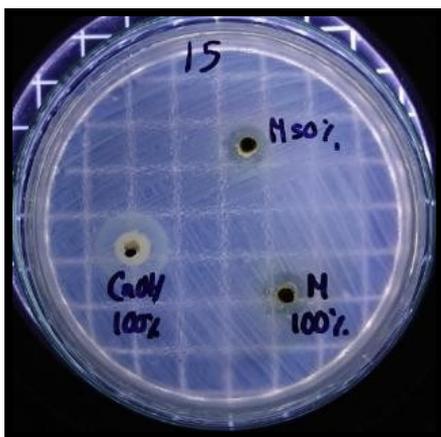


Figura 115

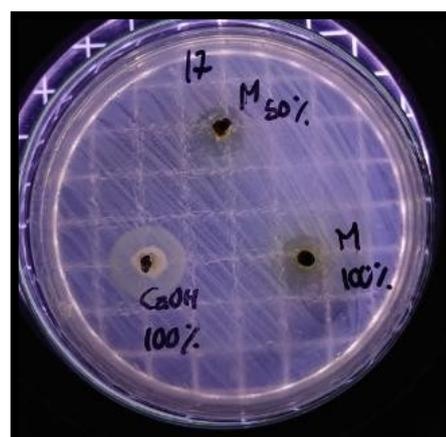


Figura 116

## 9. ELIMINACIÓN DE LOS RESIDUOS BIOLÓGICOS DEL ENSAYO.

Las placas Petri y otros residuos biológicos se colocaron en bolsas rojas y se autoclavaron según procedimiento.



Figura 117



Figura 118



Figura 119

## 10. PARTICIPACIÓN DE TESISISTAS



Figura 120



Figura 121

Biólogo Oniel Elías, Juárez Vilcapuma

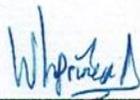
## DECLARACION JURADA

### ANTECEDENTES PENALES, POLICIALES Y JUDICIALES

Yo, Wendy Lizbeth Príncipe Ayala, con DNI N° 74756658, con domicilio en Jr. Huallayco N°511, Huánuco, declaro bajo juramento que no registro antecedentes penales, policiales ni judiciales.

- Firmo la presente declaración de conformidad de acuerdo con lo establecido en la ley N° 274444 – Ley del Procedimiento Administrativo General (LPAG) y sus modificatorias, concordada con el Decreto Legislativo N° 1246, que aprobó diversas medidas de simplificación administrativa y asumo, de corresponder la responsabilidad administrativa, civil y/o penal cuando por cualquier acción de verificación se compruebe la falsedad de la presente declaración jurada.

Huánuco, 16 de Junio del 2023



---

Wendy Lizbeth Príncipe Ayala

DNI: 74756658

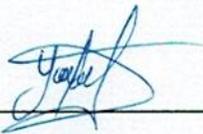
## DECLARACION JURADA

### ANTECEDENTES PENALES, POLICIALES Y JUDICIALES

Yo, Yenny Elena Soto Rosales, con DNI N° 72922945, con domicilio en Jr. Puente Piedra N°139, Pillco marca – Huánuco, declaro bajo juramento que no registro antecedentes penales, policiales ni judiciales.

- Firmo la presente declaración de conformidad de acuerdo con lo establecido en la ley N° 274444 – Ley del Procedimiento Administrativo General (LPAG) y sus modificatorias, concordada con el Decreto Legislativo N° 1246, que aprobó diversas medidas de simplificación administrativa y asumo, de corresponder la responsabilidad administrativa, civil y/o penal cuando por cualquier acción de verificación se compruebe la falsedad de la presente declaración jurada.

Huánuco, 16 de Junio del 2023



---

Yenny Elena Soto Rosales

DNI: 72922945



UNIVERSIDAD NACIONAL "HERMILIO VALDIZÁN"  
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA



DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Yo, Yenny Elena Soto Rosales, egresado de la Facultad de Medicina, Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Nacional "Hermilio Valdizán" de Huánuco identificado con DNI N° 72922945, con la tesis titulada "EFICACIA ANTIBACTERIANA DE LA MORINGA OLEÍFERA SOBRE EL ENTEROCOCCUS FAECALIS ATCC29212 (ESTUDIO IN VITRO), HUÁNUCO - 2022" **Declaro bajo juramento que:**

1. El trabajo de investigación es de mi propia autoría y se realizó sin violar o usurpar derechos de autor de terceros.
2. He respetado las normas internacionales de cotas y referencias para las fuentes consultadas. Por tanto el trabajo de investigación no ha sido plagiado total ni parcialmente.
3. El trabajo de investigación no ha sido autoplagiado, es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados ni duplicados ni copiados y por tanto los resultados que se presentan en el trabajo de investigación constituirán un aporte a la realidad investigada.
5. De identificarse fraude (datos falsos), plagio (información sin citar autores, autoplagio (presentar como nuevo algún trabajo de investigación propio que ya ha sido publicado), piratería (uso ilegal de información ajena) o falsificación (representar falsamente las ideas de otros) asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven sometiéndome a la normatividad vigente de la Universidad Nacional "Hermilio Valdizán" de Huánuco y la SUNEDU.

Huánuco, 16 de Junio del 2023

Yenny Elena Soto Rosales

DNI: 72922945



Huella digital



UNIVERSIDAD NACIONAL "HERMILIO VALDIZÁN"  
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA



DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Yo, Wendy Lizbeth Príncipe Ayala, egresado de la Facultad de Medicina, Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Nacional "Hermilio Valdizán" de Huánuco identificado con DNI N° 74756658, con la tesis titulada "EFICACIA ANTIBACTERIANA DE LA MORINGA OLEÍFERA SOBRE EL ENTEROCOCCUS FAECALIS ATCC29212 (ESTUDIO IN VITRO), HUÁNUCO - 2022"

**Declaro bajo juramento que:**

1. El trabajo de investigación es de mi propia autoría y se realizó sin violar o usurpar derechos de autor de terceros.
2. He respetado las normas internacionales de cotas y referencias para las fuentes consultadas. Por tanto el trabajo de investigación no ha sido plagiado total ni parcialmente.
3. El trabajo de investigación no ha sido autoplagiado, es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados ni duplicados ni copiados y por tanto los resultados que se presentan en el trabajo de investigación constituirán un aporte a la realidad investigada.
5. De identificarse fraude (datos falsos), plagio (información sin citar autores, autoplagio (presentar como nuevo algún trabajo de investigación propio que ya ha sido publicado), piratería (uso ilegal de información ajena) o falsificación (representar falsamente las ideas de otros) asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven sometiéndome a la normatividad vigente de la Universidad Nacional "Hermilio Valdizán" de Huánuco y la SUNEDU.

Huánuco, 16 de Junio del 2023

Wendy Lizbeth Príncipe Ayala  
DNI: 74756658



Huella digital



"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

**UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN DE  
HUÁNUCO  
FACULTAD DE MEDICINA**



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL  
DE CIRUJANO DENTISTA**

En la ciudad de Huánuco, a los **15** días del mes de **junio** del año **dos mil veintitrés**, siendo las **11:00 horas** con **00 minutos** y de acuerdo al Reglamento General de Grados y Títulos modificado de la Universidad Nacional Hermilio Valdizán – Huánuco, aprobado mediante la Resolución Consejo Universitario N°3412-2022-UNHEVAL de fecha 24-10-2022; se reunieron en el Auditorio de la E.P. de Odontología el Jurado calificador de tesis, nombrados con **RESOLUCIÓN N°0140-2023-UNHEVAL-FM-D de fecha 18 de mayo del 2023** y **RESOLUCIÓN DE DECANATO N°0266-2023-UNHEVAL-FM de fecha 12 de junio del 2023**, para proceder con la Evaluación de la Tesis Titulada **"EFICACIA ANTIBACTERIANA DE LA MORINGA OLEÍFERA SOBRE EL ENTEROCOCCUS FAECALIS ATCC29212 (ESTUDIO IN VITRO), HUÁNUCO - 2022"**, elaborado por los Bachilleres en Odontología **PRINCIPE AYALA Wendy Lizbeth** y **SOTO ROSALES Yenny Elena**, para obtener el **TÍTULO PROFESIONAL DE CIRUJANO DENTISTA**, estando conformado el jurado por los siguientes docentes:

- |                                       |                    |
|---------------------------------------|--------------------|
| - Mg. BALLARTE BAYLON Antonio Alberto | <b>PRESIDENTE</b>  |
| - Mg. CHAVEZ LEANDRO Miguel Nino      | <b>SECRETARIO</b>  |
| - Mg. CARDENAS CRIALES Jesús Omar     | <b>VOCAL</b>       |
| - Mg. AZAÑEDO RAMIREZ Víctor Abraham  | <b>ACCESITARIO</b> |

Habiendo finalizado el acto de sustentación de Tesis, el Presidente del Jurado Evaluador indica a los sustentantes y a los presentes retirarse del Auditorio por un espacio de cinco minutos aproximadamente para deliberar y emitir la calificación final, quedando los sustentantes **APROBADAS**.... con el calificativo de .....**17**..... con la nota equivalente a **MUY BUENO**; con lo cual se da por concluido el proceso de sustentación de Tesis a horas .....**12:30**..... en fe de lo cual firmamos.

Mg. BALLARTE BAYLON Antonio Alberto  
**PRESIDENTE**

Mg. CHAVEZ LEANDRO Miguel Nino  
**SECRETARIO**

Mg. CARDENAS CRIALES Jesús Omar  
**VOCAL**

Observaciones:

- 
- Excelente (19 y 20)  
-Muy Bueno (17,18)  
-Bueno (14,15 y 16)
-



UNIVERSIDAD NACIONAL "HERMILIO VALDIZÁN"  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIRECCIÓN DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN  
CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD



El que suscribe:

**Ing. Tucto Berrios, Joel**

HACE CONSTAR que:

La tesis titulada **"EFICACIA ANTIBACTERIANA DE LA MORINGA OLEÍFERA SOBRE EL ENTEROCOCCUS FAECALIS ATCC29212 (ESTUDIO IN VITRO), HUÁNUCO - 2022"** realizada por los bachilleres en Odontología:

- PRÍNCIPE AYALA, Wendy Lizbeth
- SOTO ROSALES, Yenny Elena

Cuenta con un **índice de similitud del 22%** verificable en el Reporte de Originalidad del Software antiplagio **Turnitin**. Luego del análisis se concluye que, cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio, por lo expuesto la Tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias, además de presentar un índice de Similitud menor al 30% establecido en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional Hermilio Valdizán.

Huánuco, 16 de junio del 2023



**Ing. Joel Tucto Berrios**  
**DIRECTOR**

NOMBRE DEL TRABAJO

**TESIS**

AUTOR

**yenny elena soto rosales**

RECUENTO DE PALABRAS

**22990 Words**

RECUENTO DE CARACTERES

**122232 Characters**

RECUENTO DE PÁGINAS

**126 Pages**

TAMAÑO DEL ARCHIVO

**2.1MB**

FECHA DE ENTREGA

**May 30, 2023 11:35 AM GMT-5**

FECHA DEL INFORME

**May 30, 2023 11:37 AM GMT-5**

● **22% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos:

- 20% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 14% Base de datos de trabajos entregados
- 8% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● **Excluir del Reporte de Similitud**

- Material bibliográfico
- Material citado



## AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DIGITAL Y DECLARACIÓN JURADA DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR UN GRADO ACADÉMICO O TÍTULO PROFESIONAL

### 1. Autorización de Publicación: (Marque con una "X")

<b>Pregrado</b>	X	<b>Segunda Especialidad</b>		<b>Posgrado:</b>	Maestría		Doctorado	
-----------------	---	-----------------------------	--	------------------	----------	--	-----------	--

Pregrado (tal y como está registrado en **SUNEDU**)

<b>Facultad</b>	MEDICINA
<b>Escuela Profesional</b>	ODONTOLOGÍA
<b>Carrera Profesional</b>	ODONTOLOGÍA
<b>Grado que otorga</b>	
<b>Título que otorga</b>	CIRUJANO DENTISTA

Segunda especialidad (tal y como está registrado en **SUNEDU**)

<b>Facultad</b>	
<b>Nombre del programa</b>	
<b>Título que Otorga</b>	

Posgrado (tal y como está registrado en **SUNEDU**)

<b>Nombre del Programa de estudio</b>	
<b>Grado que otorga</b>	

### 2. Datos del Autor(es): (Ingrese todos los **datos** requeridos **completos**)

<b>Apellidos y Nombres:</b>	PRÍNCIPE AYALA WENDY LIZBETH							
<b>Tipo de Documento:</b>	DNI	<input checked="" type="checkbox"/>	Pasaporte	<input type="checkbox"/>	C.E.	<input type="checkbox"/>	<b>Nro. de Celular:</b>	925 040 460
<b>Nro. de Documento:</b>	74756658				<b>Correo Electrónico:</b>	principeayala20@gmail.com		

<b>Apellidos y Nombres:</b>	SOTO ROSALES YENNY ELENA							
<b>Tipo de Documento:</b>	DNI	<input checked="" type="checkbox"/>	Pasaporte	<input type="checkbox"/>	C.E.	<input type="checkbox"/>	<b>Nro. de Celular:</b>	917 205 796
<b>Nro. de Documento:</b>	72922945				<b>Correo Electrónico:</b>	shery_amor2@hotmail.com		

<b>Apellidos y Nombres:</b>								
<b>Tipo de Documento:</b>	DNI	<input type="checkbox"/>	Pasaporte	<input type="checkbox"/>	C.E.	<input type="checkbox"/>	<b>Nro. de Celular:</b>	
<b>Nro. de Documento:</b>					<b>Correo Electrónico:</b>			

### 3. Datos del Asesor: (Ingrese todos los **datos** requeridos **completos** según **DNI**, no es necesario indicar el Grado Académico del Asesor)

<b>¿El Trabajo de Investigación cuenta con un Asesor?:</b> (marque con una "X" en el recuadro del costado, según corresponda)	SI	<input checked="" type="checkbox"/>	NO	<input type="checkbox"/>				
<b>Apellidos y Nombres:</b>	GONZALES SOTO CESAR LINCOLN				<b>ORCID ID:</b>	0000-0002-5601-5362		
<b>Tipo de Documento:</b>	DNI	<input checked="" type="checkbox"/>	Pasaporte	<input type="checkbox"/>	C.E.	<input type="checkbox"/>	<b>Nro. de documento:</b>	22411064

### 4. Datos del Jurado calificador: (Ingrese solamente los **Apellidos y Nombres** completos según **DNI**, no es necesario indicar el Grado Académico del Jurado)

<b>Presidente:</b>	BALLARTE BAYLON ANTONIO ALBERTO
<b>Secretario:</b>	CHAVEZ LEANDRO MIGUEL NINO
<b>Vocal:</b>	CARDENAS CRIALES JESUS OMAR
<b>Vocal:</b>	
<b>Vocal:</b>	
<b>Accesitario</b>	AZAÑEDO RAMIREZ VICTOR ABRAHAM

**5. Declaración Jurada:** (Ingrese todos los **datos** requeridos **completos**)

<b>a) Soy Autor (a) (es) del Trabajo de Investigación Titulado:</b> (Ingrese el título tal y como está registrado en el <b>Acta de Sustentación</b> )
“EFICACIA ANTIBACTERIANA DE LA MORINGA OLEÍFERA SOBRE EL ENTEROCOCCUS FAECALIS ATCC29212 (ESTUDIO IN VITRO), HUÁNUCO – 2022”
<b>b) El Trabajo de Investigación fue sustentado para optar el Grado Académico ó Título Profesional de:</b> (tal y como está registrado en <b>SUNEDU</b> )
TITULO PROFESIONAL DE CIRUJANO DENTISTA
c) El Trabajo de investigación no contiene plagio (ninguna frase completa o párrafo del documento corresponde a otro autor sin haber sido citado previamente), ni total ni parcial, para lo cual se han respetado las normas internacionales de citas y referencias.
d) El trabajo de investigación presentado no atenta contra derechos de terceros.
e) El trabajo de investigación no ha sido publicado, ni presentado anteriormente para obtener algún Grado Académico o Título profesional.
f) Los datos presentados en los resultados (tablas, gráficos, textos) no han sido falsificados, ni presentados sin citar la fuente.
g) Los archivos digitales que entrego contienen la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado.
h) Por lo expuesto, mediante la presente asumo frente a la Universidad Nacional Hermilio Valdizan (en adelante LA UNIVERSIDAD), cualquier responsabilidad que pudiera derivarse por la autoría, originalidad y veracidad del contenido del Trabajo de Investigación, así como por los derechos de la obra y/o invención presentada. En consecuencia, me hago responsable frente a LA UNIVERSIDAD y frente a terceros de cualquier daño que pudiera ocasionar a LA UNIVERSIDAD o a terceros, por el incumplimiento de lo declarado o que pudiera encontrar causas en la tesis presentada, asumiendo todas las cargas pecuniarias que pudieran derivarse de ello. Asimismo, por la presente me comprometo a asumir además todas las cargas pecuniarias que pudieran derivarse para LA UNIVERSIDAD en favor de terceros con motivo de acciones, reclamaciones o conflictos derivados del incumplimiento de lo declarado o las que encontraren causa en el contenido del trabajo de investigación. De identificarse fraude, piratería, plagio, falsificación o que el trabajo haya sido publicado anteriormente; asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, sometiéndome a la normatividad vigente de la Universidad Nacional Hermilio Valdizan.

**6. Datos del Documento Digital a Publicar:** (Ingrese todos los **datos** requeridos **completos**)

<b>Ingrese solo el año en el que sustentó su Trabajo de Investigación:</b> (Verifique la Información en el <b>Acta de Sustentación</b> )			2023
<b>Modalidad de obtención del Grado Académico o Título Profesional:</b> (Marque con <b>X</b> según Ley Universitaria con la que inició sus estudios)	Tesis	<input checked="" type="checkbox"/>	Tesis Formato Artículo
	Trabajo de Investigación	<input type="checkbox"/>	Trabajo de Suficiencia Profesional
	Trabajo Académico	<input type="checkbox"/>	Otros (especifique modalidad)
<b>Palabras Clave:</b> (solo se requieren 3 palabras)			

<b>Tipo de Acceso:</b> (Marque con <b>X</b> según corresponda)	Acceso Abierto	<input checked="" type="checkbox"/>	Condición Cerrada (*)	<input type="checkbox"/>
	Con Periodo de Embargo (*)	<input type="checkbox"/>	Fecha de Fin de Embargo:	

<b>¿El Trabajo de Investigación, fue realizado en el marco de una Agencia Patrocinadora?</b> (ya sea por financiamientos de proyectos, esquema financiero, beca, subvención u otras; marcar con una “X” en el recuadro del costado según corresponda):	SI	NO	<input checked="" type="checkbox"/>
<b>Información de la Agencia Patrocinadora:</b>			

El trabajo de investigación en digital y físico tienen los mismos registros del presente documento como son: Denominación del programa Académico, Denominación del Grado Académico o Título profesional, Nombres y Apellidos del autor, Asesor y Jurado calificador tal y como figura en el Documento de Identidad, Título completo del Trabajo de Investigación y Modalidad de Obtención del Grado Académico o Título Profesional según la Ley Universitaria con la que se inició los estudios.

### 7. Autorización de Publicación Digital:

A través de la presente. Autorizo de manera gratuita a la Universidad Nacional Hermilio Valdizán a publicar la versión electrónica de este Trabajo de Investigación en su Biblioteca Virtual, Portal Web, Repositorio Institucional y Base de Datos académica, por plazo indefinido, consintiendo que con dicha autorización cualquier tercero podrá acceder a dichas páginas de manera gratuita pudiendo revisarla, imprimirla o grabarla siempre y cuando se respete la autoría y sea citada correctamente. Se autoriza cambiar el contenido de forma, más no de fondo, para propósitos de estandarización de formatos, como también establecer los metadatos correspondientes.

		
<b>Firma:</b>		
<b>Apellidos y Nombres:</b>	PRÍNCIPE AYALA WENDY LIZBETH	<b>Huella Digital</b>
<b>DNI:</b>	74756658	
		
<b>Firma:</b>		
<b>Apellidos y Nombres:</b>	SOTO ROSALES YENNY ELENA	<b>Huella Digital</b>
<b>DNI:</b>	72922945	
		
<b>Firma:</b>		
<b>Apellidos y Nombres:</b>		<b>Huella Digital</b>
<b>DNI:</b>		
<b>Fecha: 19 – 06- 2023</b>		

### Nota:

- ✓ No modificar los textos preestablecidos, conservar la estructura del documento.
- ✓ Marque con una X en el recuadro que corresponde.
- ✓ Llenar este formato de forma digital, con tipo de letra **calibri**, **tamaño de fuente 09**, manteniendo la alineación del texto que observa en el modelo, sin errores gramaticales (*recuerde las mayúsculas también se tildan si corresponde*).
- ✓ La información que escriba en este formato debe coincidir con la información registrada en los demás archivos y/o formatos que presente, tales como: DNI, Acta de Sustentación, Trabajo de Investigación (PDF) y Declaración Jurada.
- ✓ Cada uno de los datos requeridos en este formato, es de carácter obligatorio según corresponda.