

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Escuela Académico Profesional de Odontología

Tesis

**Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico
de Tocosh y el metronidazol frente a *Porphyromonas*
Gingivalis ATCC 33277, Huancayo - 2024**

Paola Kelly Espinal Veliz
Nayeli Yeimi Reza Gonzales

Para optar el Título Profesional de
Cirujano Dentista

Huancayo, 2025

Repositorio Institucional Continental
Tesis digital



Esta obra está bajo una Licencia "Creative Commons Atribución 4.0 Internacional" .

INFORME DE CONFORMIDAD DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

A : Decana de la Facultad de Ciencias de la Salud
DE : Armando Moisés Carrillo Fernández
Asesor de trabajo de investigación
ASUNTO : Remito resultado de evaluación de originalidad de trabajo de investigación
FECHA : 15 de Setiembre de 2025

Con sumo agrado me dirijo a vuestro despacho para informar que, en mi condición de asesor del trabajo de investigación:

Título:

Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de Tocosh y el metronidazol frente a Porphyromonas Gingivalis ATCC 33277, Huancayo - 2024

Autores:

1. Paola Kelly Espinal Veliz – EAP. Odontología
2. Nayeli Yeimi Reza Gonzales – EAP. Odontología

Se procedió con la carga del documento a la plataforma “Turnitin” y se realizó la verificación completa de las coincidencias resaltadas por el software dando por resultado 18 % de similitud sin encontrarse hallazgos relacionados a plagio. Se utilizaron los siguientes filtros:

- Filtro de exclusión de bibliografía SI NO
- Filtro de exclusión de grupos de palabras menores SI NO
Nº de palabras excluidas (en caso de elegir “SI”): 15
- Exclusión de fuente por trabajo anterior del mismo estudiante SI NO

En consecuencia, se determina que el trabajo de investigación constituye un documento original al presentar similitud de otros autores (citas) por debajo del porcentaje establecido por la Universidad Continental.

Recae toda responsabilidad del contenido del trabajo de investigación sobre el autor y asesor, en concordancia a los principios expresados en el Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos – RENATI y en la normativa de la Universidad Continental.

Atentamente,

La firma del asesor obra en el archivo original

(No se muestra en este documento por estar expuesto a publicación)

Dedicatoria

La tesis está dedicada a nuestros padres, quienes son nuestra mayor inspiración y motivo para alcanzar nuestros sueños. Por apoyarnos incondicionalmente y darnos valores fundamentales para nuestra formación, enseñándonos que el esfuerzo, la dedicación y la perseverancia son claves para alcanzar nuestros propósitos trazados.

Agradecimientos

A Dios por resplandecer nuestro camino y llenarnos de bendiciones y salud. Queremos expresar una profunda gratitud a nuestra alma mater, la Universidad Continental, y a todos los docentes, quienes han sido fundamentales para nuestra formación profesional, compartiendo sus valiosos conocimientos y brindándonos el apoyo necesario para alcanzar nuestras metas. Un agradecimiento especial a nuestro asesor, Armando Moisés Carrillo Fernández, por su orientación y guía en la elaboración de esta tesis.

Índice de contenidos

Dedicatoria	iv
Agradecimientos	v
Índice de contenidos	vi
Índice de tablas	vii
Resumen	viii
Abstract	ix
Introducción	1
Capítulo I: Marco Teórico	6
Capítulo II: Materiales y métodos	18
Capítulo III: Resultados	23
Capítulo IV: Discusión	29
Conclusiones	32
Recomendaciones	33
Bibliografía	34
Anexos	37

Índice de tablas

Tabla 1: Efecto antibacteriano de las concentraciones del extracto etanólico de tocosh (n=36) frente a <i>Porphyromonas gingivalis</i> a las 24 horas de estudio	23
Tabla 2: Efecto antibacteriano de las concentraciones del extracto etanólico de tocosh (n=36) frente a <i>Porphyromonas gingivalis</i> a las 48 horas de estudio	24
Tabla 3: Efecto antibacteriano de las concentraciones del extracto etanólico de tocosh (n=36) frente a <i>Porphyromonas gingivalis</i> a las 72 horas del estudio	25
Tabla 4: Análisis de normalidad por Shapiro Wilk (n=36) de las concentraciones de extractos etanólicos de Tocosh frente a <i>Porphyromonas gingivalis</i> en los tres períodos de estudio.....	26
Tabla 5: Comparación en parejas de la efectividad de sustancias de prueba en los tres tiempos de estudio	27
Tabla 6: Análisis de varianzas según los tiempos de estudio de las concentraciones del extracto etanólico de Tocosh sobre <i>Porphyromonas gingivalis</i> según prueba de Wilcoxon	28

Resumen

La tesis tuvo como objetivo de la tesis fue analizar el efecto antibacteriano in vitro de concentraciones del extracto etanólico de Tocosh (25%, 50%, 75%, 100%) y Metronidazol frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. La investigación fue aplicada, experimental, y prospectiva. La muestra consistió en 9 ensayos. Los resultados mostraron que a las 24 horas, los extractos etanólicos de Tocosh al 75% y 100% presentaron halos de inhibición de $17,21 \pm 1,433$ mm y $12,48 \pm 0,563$ mm, mientras que las concentraciones al 25% y 50% no mostraron actividad antibacteriana. El metronidazol presentó halo de $23,33 \pm 1,316$ mm. A las 48 horas, los extractos al 75% y 100% mostraron halos de inhibición de $17,03 \pm 1,434$ mm y $12,30 \pm 0,570$ mm, y metronidazol $23,14 \pm 1,312$ mm. A las 72 horas, los extractos al 75% y 100% mostraron halos de $16,85 \pm 1,425$ mm y $12,10 \pm 0,565$ mm, mientras que el metronidazol tuvo $22,94 \pm 1,322$ mm. La prueba de Mann Whitney indicó diferencias significativas entre los extractos de Tocosh al 100%, 75% y Metronidazol ($p < 0,05$), pero no para los extractos al 50% y 25% ($p > 0,05$). Se concluyó que al analizar el efecto antibacteriano in vitro de las concentraciones del extracto etanólico de Tocosh al 25%, 50%, 75% y 100% a las 24, 48 y 72 horas existe diferencias significativas, en comparación con el Metronidazol, frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, siendo los extractos etanólicos de Tocosh al 75% y 100% los que mostraron mayor efecto antibacteriano.

Palabras Claves: *Porphyromonas gingivalis*, Metronidazol, antibacteriano.

Abstract

The objective of this thesis was to analyze the in vitro antibacterial effect of concentrations of the ethanolic extract of Tocosh (25%, 50%, 75%, 100%) and Metronidazole against *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. The research was applied, experimental, and prospective. The sample consisted of 9 tests. The results showed that at 24 hours, the ethanolic extracts of Tocosh at 75% and 100% presented inhibition halos of 17.21 ± 1.433 mm and 12.48 ± 0.563 mm, while concentrations at 25% and 50% showed no antibacterial activity. Metronidazole presented a halo of 23.33 ± 1.316 mm. At 48 hours, the 75% and 100% extracts showed inhibition halos of 17.03 ± 1.434 mm and 12.30 ± 0.570 mm, and metronidazole 23.14 ± 1.312 mm. At 72 hours, the 75% and 100% extracts showed halos of 16.85 ± 1.425 mm and 12.10 ± 0.565 mm, while metronidazole had 22.94 ± 1.322 mm. The Mann Whitney test indicated significant differences between the 100%, 75% and Metronidazole Tocosh extracts ($p < 0.05$), but not for the 50% and 25% extracts ($p > 0.05$). It was concluded that when analyzing the in vitro antibacterial effect of the concentrations of the ethanolic extract of Tocosh at 25%, 50%, 75% and 100% at 24, 48 and 72 hours, there are significant differences, compared to Metronidazole, against *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, with the ethanolic extracts of Tocosh at 75% and 100% showing the greatest antibacterial effect.

Keywords: *Porphyromonas gingivalis*, Metronidazole, antibacterial.

Introducción

La *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) es una de las bacterias más prevalentes y patógenas asociadas a enfermedades periodontales, como la gingivitis y la periodontitis, que afectan a un alto porcentaje de la población mundial. El tratamiento convencional de estas infecciones bacterianas incluye el uso de antibióticos como el metronidazol, un agente conocido por su efectividad frente a bacterias anaerobias, pero el uso excesivo de antibióticos ha generado preocupación por el desarrollo de resistencia bacteriana y sus efectos adversos en el microbiota oral y la salud general.

Por ello, la búsqueda de alternativas naturales con propiedades antimicrobianas ha cobrado gran relevancia en la investigación de nuevos tratamientos. En este contexto, el Tocosh, un alimento tradicional andino derivado de la fermentación del maíz, ha mostrado propiedades terapéuticas que incluyen efectos antioxidantes, antiinflamatorios y antimicrobianos. El extracto etanólico de Tocosh contiene compuestos bioactivos que podrían tener potencial para inhibir el crecimiento bacteriano de *P. gingivalis*.

Este estudio se propone evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de Tocosh a diferentes concentraciones (25%, 50%, 75%, 100%) en comparación con el metronidazol frente a *P. gingivalis* ATCC 33277. Se determinará la actividad antimicrobiana del extracto a las 24, 48 y 72 horas de exposición, con el objetivo de identificar la concentración más efectiva y el tiempo óptimo de acción. Los resultados obtenidos podrían contribuir a la validación de Tocosh como una posible alternativa terapéutica natural frente a infecciones periodontales, brindando nuevas perspectivas para el manejo de la salud bucal.

En referencia a la delimitación de la investigación, la delimitación territorial fue en el departamento de Lima en el país Perú. La delimitación temporal exclusivamente se centró en los meses de realización de noviembre a diciembre del año 2024. La delimitación conceptual se centró en las teorías que sustentaron el análisis actual, utilizando una ficha para la recolección de datos, con el fin de evaluar los valores de cada variable. Se consideró exclusivamente el marco conceptual y la literatura actual, no superior a 5 años, para asegurar la relevancia de las compilaciones y contribuir así a futuros estudios en el mismo contexto.

En referencia al planteamiento del problema, desde tiempos antiguos, los remedios tradicionales han sido utilizados para aliviar el dolor dental y promover la

higiene bucal. Esta práctica ancestral está respaldada por numerosos estudios científicos que han documentado el uso extenso de plantas para fines preventivos y curativos. A nivel global, las enfermedades bucodentales representan un importante problema de salud pública, afectando a personas de todas las edades con afecciones como cáncer oral, halitosis, periodontitis, gingivitis y caries dentales. La gravedad de esta situación se ve aumentada por hábitos alimentarios inadecuados y la presencia de comorbilidades. (1)

En la tradición popular peruana, el conocimiento sobre el uso de productos naturales ancestrales para prevenir y tratar enfermedades ha sido transmitido de generación en generación. Un ejemplo destacado es el tocosh, un recurso natural peruano obtenido mediante la fermentación de la papa (*Solanum tuberosum*). Perú, con aproximadamente 3.800 variedades de papa, es uno de los principales exportadores de este tubérculo, que fue domesticado hace menos de 10.000 años. Además de consumir la papa fresca, los antiguos peruanos también utilizaban la papa fermentada. (2)

A pesar de su aroma característico, el tocosh es un alimento tradicional altamente apreciado por sus numerosos beneficios para la salud. Este producto se elabora mediante una técnica ancestral andina que emplea la fermentación bacteriana de productos locales como el maíz, el olluco, la arracacha, la oca, y especialmente la papa. El nombre "tocosh" proviene del término quechua "togosh", que significa arrugado y fermentado, lo cual refleja tanto su método de producción como sus características. El tocosh de papa se consume y comercializa en regiones como Huánuco, Pasco, Apurímac, Ancash, Junín y Lima, siendo utilizado tanto como alimento básico como tratamiento tradicional debido a sus beneficios en problemas infecciosos, gástricos y de soroche. Se considera una medicina tradicional peruana segura, con un límite seguro de hasta 1000 mg/kg de peso corporal en estudios realizados con animales. (3)

Además, se ha señalado que la papa (*Solanum tuberosum*) contiene compuestos fenólicos, flavonoides, antocianinas, vitamina C, triterpenos, saponinas, alcaloides y α -solanina, lo que la convierte en una fuente alimenticia rica en propiedades antioxidantes y fitoquímicas. Las diversas variedades de papa podrían llevar al descubrimiento de nuevas clases de sustancias antibióticas que podrían ser empleadas como agentes selectivos en el tratamiento y control de enfermedades infecciosas. (4)

Por su parte, la boca constituye un ecosistema único que alberga una variedad de bacterias en distintos nichos, como los dientes, las encías, la lengua,

las mejillas y otras áreas. Cada una de estas superficies proporciona condiciones distintas para las bacterias, lo que resulta en diferencias en las poblaciones microbianas entre individuos, especialmente en los adultos mayores. En el entorno bucal, no todas las bacterias son perjudiciales; algunas son beneficiosas y juegan un papel esencial en el mantenimiento del equilibrio del ecosistema oral. En contraste, las bacterias patógenas tienden a proliferar más que las bacterias beneficiosas y, si lo logran, pueden causar enfermedades bucales como caries y enfermedades de las encías, afectando también la salud general del individuo. (5)

Dentro de las enfermedades de las encías, la *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) es una bacteria estrictamente anaeróbica que suele estar asociada con patologías crónicas como la gingivitis y la periodontitis. Si la periodontitis no se trata adecuadamente, pueden formarse bolsas periodontales entre la encía y el diente, lo que puede provocar complicaciones adicionales, como la halitosis. Esta halitosis es el resultado de la producción de compuestos de azufre volátiles y malolientes, generados por la metabolización de diversas sustancias en la cavidad bucal por parte de *P. gingivalis*. La bacteria cuenta con varios factores de virulencia que pueden intensificar la gravedad de la enfermedad, especialmente en caso de infecciones mixtas. Actualmente, se están explorando nuevas alternativas de productos naturales para tratar problemas médicos y odontológicos asociados con esta bacteria. (6)

No obstante, algunos estudios indican que el tocosh posee importantes propiedades medicinales. A su vez, algunas cepas de tocosh tienen potencial como agentes antimicrobianos, al inhibir tanto bacterias como hongos mediante bacteriocinas y/o moléculas antifúngicas. Es por ello que se propone como alternativa el uso del extracto acuoso de Tocosh como agente bactericida efectivo contra *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis*, bacterias clave implicadas en la caries dental y la periodontitis, respectivamente. A través de la evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto acuoso de Tocosh, se busca ofrecer una alternativa natural y eficaz para el manejo y prevención de enfermedades orales, resaltando la importancia de aprovechar los recursos tradicionales en la lucha contra las infecciones bucales.

En este contexto, se planteó la siguiente formulación del problema ¿Cómo es el efecto antibacteriano in vitro de las concentraciones del extracto etanólico de Tocosh al 25%, 50%, 75%, 100% a las 24, 48 y 72 horas y el Metronidazol frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277?

En referencia a los objetivos de la investigación el objetivo general fue analizar el efecto antibacteriano in vitro de las concentraciones del extracto etanólico de Tocosh al 25%, 50%, 75%, 100% a las 24, 48 y 72 horas y el Metronidazol frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. Los objetivos específicos fueron determinar el efecto antibacteriano de las concentraciones del extracto etanólico de Tocosh y Metronidazol a las 24 horas frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. Determinar el efecto antibacteriano de las concentraciones del extracto etanólico de Tocosh y Metronidazol a las 48 horas frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. Determinar el efecto antibacteriano de las concentraciones del extracto etanólico de Tocosh y metronidazol a las 72 horas frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277.

En referencia a la justificación teórica se amplió el conocimiento de los profesionales de la odontología sobre el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de Tocosh al 25%, 50%, 75%, 100% a las 24, 48 y 72 horas y el Metronidazol frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 y obtener de él conocimientos fiables para que puedan ser utilizados como base teórica para otros estudios.

Este estudio presentó justificación práctica, porque permitió solucionar un suceso problemático relevante en los adultos mayores como es las enfermedades con factor etiológico de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 que se vio acrecentando de manera progresiva sobre todo en los pobladores con higiene deficiente. Este trabajo ayudó en la búsqueda continua de soluciones más sostenibles y menos propensas a generar resistencia en el tratamiento de infecciones bacterianas al ampliar nuestro entendimiento sobre alternativas naturales para combatir bacterias resistentes a antibióticos.

Este estudio presentó justificación metodológica, referente a los pocos estudios actuales sobre la temática en nuestro país y sobre todo en nuestra región que sirvió a nuestra realidad para efectuar otros estudios.

Este estudio presentó justificación social, porque los beneficiarios fueron todo aquel individuo que presentó enfermedades con factor etiológico de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 y a su vez benefició a los profesionales en odontología para tener noción de cómo abordar este tipo de pacientes. Este estudio proporcionó pruebas científicas útiles sobre las propiedades antibacterianas del extracto etanólico de Tocosh, un recurso natural que aún no ha sido estudiado adecuadamente. Este extracto combate patógenos orales importantes como *Porphyromonas gingivalis*.

En referencia a la hipótesis de la investigación la hipótesis alterna indicó que existe efecto antibacteriano in vitro de las concentraciones del extracto etanólico de tocosh al 25%, 50%, 75% y 100% a las 24, 48 y 72 horas frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. La hipótesis nula indicó que no hay efecto antibacteriano in vitro de las concentraciones del extracto etanólico de tocosh al 25%, 50%, 75% y 100% a las 24, 48 y 72 horas frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277.

Capítulo I: Marco Teórico

1.1 Antecedentes del problema

Antecedentes internacionales

Azeez et al. (7), en su trabajo experimental realizado en Iraq en 29 muestras, concluyeron que *P. gingivalis* persistente tiene tolerancia a múltiples fármacos, no debido a resistencia a antimicrobianos. Una combinación de subcitrato de bismuto coloidal (CBS) y metronidazol elimina eficazmente estos persistentes tanto en modo planctónico como en biopelículas, superando a las combinaciones convencionales de metronidazol con amoxicilina. CBS muestra mínima citotoxicidad en células epiteliales gingivales humanas (HGEC).

En el trabajo de Carrol et al. (8), en su trabajo experimental realizado en EEUU. en 21 muestras, concluyeron que la actividad antibacteriana de siete especies vegetales y frutos de *Pistacia lentiscus* contra *P. gingivalis*, apoyando su uso tradicional en higiene bucal y tratamiento de periodontitis. Las plantas presentan un potencial para el desarrollo de productos farmacéuticos y de higiene oral.

En Indonesia Fajriani et al. (9), en su trabajo experimental realizado en India. en 10 muestras, concluyeron que la fracción de extracto de té verde inhibe el crecimiento de *P. gingivalis*. A través de métodos de extracción y pruebas antibacterianas, se encontró que concentraciones mínimas de 0,5% (5 mg/ml) eran efectivas, mostrando zonas de inhibición de 16,16 mm a 4 mg/disco. Estos resultados sugieren el potencial del té verde en formatos farmacéuticos para prevenir la periodontitis.

En el artículo de Gaphor (10), en su trabajo experimental realizado en Iraq en 29 muestras, concluyó que la actividad antibacteriana del aceite esencial de la goma de *Pistacia atlántica* Kurdica de la región del Kurdistán en Irak, contra el periodontopatógeno *P. gingivalis* aislado clínicamente, utilizando un modelo in vitro. Los resultados indican que el extracto tiene efectos antibacterianos significativos.

Ré et al. (11), en su trabajo experimental realizado en Brasil en 10 muestras, en su artículo concluye que el sistema semisólido diseñado para la liberación de metronidazol (MDZ) ha demostrado ser efectivo en el control de la viabilidad de *Porphyromonas gingivalis* en biopelículas durante un período de hasta 72 horas. La liberación de MDZ desde la formulación fue

sustancialmente afectada por el medio de cultivo en comparación con la solución tampón, especialmente a las 24 horas.

En Indonesia Widyarman et al. (12), en su trabajo experimental realizado en Indonesia en 8 muestras, concluyeron que el extracto de cáscara de mangostán ha demostrado ser eficaz para inhibir el crecimiento de *S. mutans* y *P. gingivalis* en biopelículas. Este estudio resalta el potencial del efecto antibiofílmico como una terapia alternativa para prevenir caries y enfermedades periodontales. Sin embargo, se necesitan más estudios para investigar su eficacia contra otros patógenos orales.

En su artículo Azizah et al. (13), en su trabajo experimental realizado en Indonesia en 10 muestras, concluyeron que el extracto de etanol de *E. bulbosa* ha demostrado inhibir el crecimiento de la bacteria *P. gingivalis*. La presencia de una zona de inhibición alrededor del disco indica este efecto, donde concentraciones más altas del extracto resultan en zonas de inhibición más grandes. A una concentración de 9,1 mg/ml, la actividad del extracto es comparable con la de 2 mg/ml de gluconato de clorhexidina.

En el artículo en conferencia de Minasari (14), en su trabajo experimental realizado en Indonesia en 7 muestras, concluyó que el extracto de limoncillo es efectivo para inhibir el crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* ATCC® 33277 a una concentración del 25% (MIC) y eliminarlo a una concentración del 50% (MBC). Investigaciones futuras deberían utilizar herramientas y métodos más avanzados para explorar más a fondo los niveles de MIC y MBC del extracto de limoncillo contra *Porphyromonas gingivalis* y otras bacterias causantes de periodontitis como *Fusobacterium nucleatum*.

Antecedentes nacionales

En la tesis de Paquiyauri et al. (15), en su trabajo experimental realizado en Lima en 10 muestras, se concluyó que el extracto etanólico de *Physalis peruviana* L. (Aguaymanto) mostró actividad antibacteriana contra *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*. Los compuestos bioactivos identificados incluyen alcaloides, lactonas, fenoles, terpenos, esteroides, taninos y flavonoides. Aunque efectivo en concentraciones del 15%, 50% y 85% contra *S. mutans*, solo la concentración del 85% fue efectiva contra *S. aureus*, sin superar la eficacia de la clorhexidina y el ciprofloxacino.

La tesis de Quiroz (16), en su trabajo experimental realizado en Trujillo en 20 muestras, demostró que el extracto etanólico de *Cordia lutea* Lam, o

flor de overo, inhibe eficazmente el crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Los halos de inhibición aumentaron proporcionalmente con las concentraciones del extracto, siendo efectivas desde el 50% hasta el 100%. Esto indica el potencial de este extracto como un agente antibacteriano para combatir infecciones bucales.

En la tesis de Tello (17), en su trabajo experimental realizado en Huancayo en 20 muestras, concluyó que el extracto de *Zingiber officinale* (jengibre) exhibe propiedades antimicrobianas efectivas contra bacterias periodontopatógenas in vitro. La eficiencia del extracto aumenta con la concentración, siendo las concentraciones de 25%, 75% y 100% progresivamente más efectivas. Estos hallazgos subrayan el potencial del jengibre como un tratamiento viable para las infecciones periodontales, incentivando investigaciones adicionales para explorar su aplicación en contextos clínicos.

La tesis de Aynaya et al. (18), en su trabajo experimental realizado en Arequipa en 50 muestras, confirmó la presencia de un efecto antimicrobiano del aceite esencial de jengibre al 100% sobre cepas de *Enterococcus faecalis*, aunque este efecto fue inferior al observado con el gluconato de clorhexidina al 0,12%. A pesar de que el diámetro de inhibición del aceite de jengibre se mantuvo relativamente constante en 12,00 mm a las 24 horas y 12,33 mm a las 48 horas, no fue tan efectivo como la clorhexidina, que mostró diámetros de inhibición de 14,53 mm y 14,87 mm respectivamente, en los mismos intervalos de tiempo.

Enciso et al. (19), en su trabajo experimental realizado en Lima en 10 muestras, concluyen que in vitro indican el extracto etanólico de *Tocosh* en concentraciones del 100% y 75% produjeron los halos de inhibición más grandes, superando incluso al control positivo de clorhexidina al 0,12%, con resultados estadísticamente significativos. El análisis post hoc reveló que no hay diferencias significativas entre los halos de inhibición de HET al 50% y la clorhexidina al 0,12%, mientras que HET al 25% mostró un halo menor en comparación con la clorhexidina.

Gamboa (20), en su trabajo experimental realizado en Trujillo en 50 muestras, en su tesis concluye que todas las concentraciones del extracto etanólico de *Solanum tuberosum* (chuño negro) tienen un efecto antibacteriano in vitro significativo sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. La concentración al 75% resultó ser muy eficaz, mostrando una alta

sensibilidad, mientras que las concentraciones del 50% y 25% también fueron efectivas, pero en menor medida.

Asimismo, la tesis de Vergara et al. (21), en su trabajo experimental realizado en Trujillo en 20 muestras, confirmaron que el extracto etanólico de propóleo de Cajamarca tiene un marcado efecto antibacteriano contra *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277) in vitro. Las colonias de esta bacteria mostraron una mayor susceptibilidad al extracto en una concentración del 15%. Además, se determinó que la concentración mínima inhibitoria efectiva del extracto es del 2.5%.

El trabajo de Yoshimasu et al. (22), en su trabajo experimental realizado en Lima en 20 muestras, concluye que el extracto etanólico de propóleo (EEP) y sus compuestos derivados, como la artepillina C, bacarina y ácido ursólico, poseen potentes actividades antibacterianas contra *Porphyromonas gingivalis*, un patógeno fundamental en las enfermedades periodontales. La EEP mostró termoestabilidad y efectividad en aumentar la permeabilidad de la membrana de *P. gingivalis*, lo que induce la muerte celular.

1.2 Bases teóricas

Tocosh

El Tocosh como planta, contiene compuestos químicos que benefician al tracto gastrointestinal, gracias a sus componentes terpenoides, flavonoides y alcaloides, los cuales tienen propiedades protectoras sobre la mucosa gástrica, es un alimento tradicional andino, especialmente popular en Perú, que se obtiene a partir de la fermentación de granos de maíz, un proceso que involucra la descomposición microbiana de los almidones del maíz, generando un alimento de textura densa, de sabor fuerte y de propiedades nutricionales y medicinales reconocidas en la medicina tradicional. Su valor terapéutico ha sido investigado en diversas áreas, como la antioxidante, antiinflamatoria y antimicrobiana, lo que lo convierte en un recurso prometedor para la investigación biomédica. (23)

Composición bioactiva del Tocosh

El proceso de fermentación al que se somete el maíz para obtener el Tocosh aumenta la biodisponibilidad de compuestos bioactivos, los cuales incluyen:

Ácidos orgánicos: Durante la fermentación, los carbohidratos presentes en el maíz se convierten en ácidos orgánicos como el ácido láctico, acético y butírico, que poseen propiedades antimicrobianas y

antiinflamatorias. (24)

Fenoles y flavonoides: Estos compuestos, comunes en alimentos fermentados, tienen un potente efecto antioxidante y antiinflamatorio. Los flavonoides, en particular, son conocidos por su capacidad para neutralizar los radicales libres, lo que puede proteger las células del daño oxidativo. (24)

Alcaloides y aminoácidos: Aunque en menor cantidad, algunos estudios sugieren la presencia de alcaloides que podrían tener propiedades antimicrobianas. Además, los aminoácidos derivados de la fermentación ayudan en el fortalecimiento del sistema inmunológico y la mejora de la salud en general. (24)

Vitaminas y minerales: El Tocosh es rico en vitaminas del complejo B, vitamina C, y minerales como el calcio, el magnesio y el fósforo, que son esenciales para la salud ósea y metabólica. (24)

Propiedades antimicrobianas del extracto etanólico de Tocosh

El extracto etanólico de Tocosh ha sido objeto de investigaciones por sus propiedades antimicrobianas. La etanolización es un método eficaz para extraer los compuestos bioactivos del Tocosh, dado que el etanol puede disolver tanto compuestos polares como no polares, lo que permite obtener una gama más amplia de metabolitos con actividad biológica. (25)

En estudios previos, se ha observado que los extractos etanólicos de Tocosh tienen efectos antimicrobianos contra varias bacterias patógenas, incluyendo algunas especies de *Escherichia coli*, *Streptococcus mutans*, y *Porphyromonas gingivalis* (un patógeno clave en la periodontitis). Estos efectos se atribuyen principalmente a los ácidos orgánicos presentes en el extracto, que pueden interferir con la integridad de las membranas celulares bacterianas, alterando su permeabilidad y contribuyendo a la muerte celular bacteriana. Además de los ácidos orgánicos, los flavonoides y fenoles presentes en el extracto de Tocosh también juegan un papel crucial en su actividad antimicrobiana. Estas sustancias bioactivas tienen la capacidad de inhibir diversas enzimas bacterianas esenciales, como las que participan en la síntesis de proteínas, la replicación del ADN o el metabolismo energético de las bacterias. (25)

Mecanismo de acción antibacteriana

El mecanismo por el cual el extracto etanólico de Tocosh ejerce su acción antimicrobiana aún está siendo explorado, pero algunos de los posibles mecanismos incluyen:

Inhibición de la síntesis de proteínas bacterianas: Los compuestos fenólicos y flavonoides pueden interferir con la maquinaria de síntesis de proteínas de las bacterias, afectando su capacidad para reproducirse y mantenerse activos. (25)

Alteración de la membrana celular bacteriana: Los ácidos orgánicos y otros compuestos bioactivos presentes en el extracto pueden modificar la estructura de la membrana celular bacteriana, lo que facilita la fuga de contenido intracelular y, eventualmente, la lisis celular. (25)

Disminución de la formación de biopelículas: Algunas investigaciones sugieren que el Tocosh podría interferir con la capacidad de las bacterias para formar biopelículas, una estructura protectora que las bacterias forman en superficies biológicas y que las hace más resistentes a los tratamientos convencionales. (25)

Propiedades Nutricionales y Terapéuticas

Aparte de sus efectos antimicrobianos, el Tocosh ha sido tradicionalmente utilizado por las comunidades andinas para tratar diversas afecciones, como problemas digestivos, inflamatorios y metabólicos. Entre sus propiedades se incluyen:

Antiinflamatorias: Los compuestos fenólicos y los ácidos grasos de Tocosh pueden ayudar a reducir la inflamación en el organismo, lo cual es particularmente relevante en enfermedades inflamatorias crónicas, como las enfermedades periodontales. (26)

Antioxidantes: La presencia de flavonoides y otros antioxidantes en el Tocosh puede ayudar a neutralizar los radicales libres en el cuerpo, protegiendo las células contra el estrés oxidativo y reduciendo el riesgo de enfermedades crónicas. (26)

Regulación del metabolismo: Los efectos antioxidantes y antiinflamatorios también pueden ayudar a regular el metabolismo y mejorar la salud general, lo que puede ser útil para pacientes con trastornos metabólicos, como la obesidad o la diabetes. (26)

Aplicaciones en la salud bucal

Dado su perfil de compuestos bioactivos, el extracto etanólico de Tocosh muestra un gran potencial en el tratamiento de infecciones orales, particularmente aquellas causadas por *Porphyromonas gingivalis*, una bacteria clave en el desarrollo de enfermedades periodontales. Además de su capacidad antimicrobiana directa, sus propiedades antiinflamatorias

podrían ser beneficiosas en el tratamiento de la gingivitis y la periodontitis, ayudando a reducir la inflamación y promoviendo la regeneración de los tejidos gingivales. (26)

Si bien el Tocosh se ha utilizado tradicionalmente sin efectos adversos reportados, es fundamental realizar estudios más detallados para establecer su seguridad y eficacia en contextos clínicos. Es importante investigar posibles interacciones con otros medicamentos y evaluar su toxicidad a largo plazo, especialmente cuando se utiliza en concentraciones elevadas, como el extracto etanólico al 75% o 100%. Además, la formulación de este extracto en productos farmacéuticos o terapéuticos debería considerar factores como la estabilidad del extracto y su biodisponibilidad, para garantizar una acción efectiva y segura. (26)

Metronidazol

Es un medicamento antimicrobiano ampliamente utilizado en el tratamiento de infecciones causadas por microorganismos anaeróbicos y algunos protozoos. Es uno de los fármacos más comunes en el tratamiento de infecciones bacterianas en diversas especialidades médicas, incluida la odontología, especialmente en el manejo de enfermedades periodontales. (27)

Mecanismo de acción del Metronidazol

El metronidazol es un antibiótico de acción específica contra microorganismos anaeróbicos y ciertos protozoos. Su mecanismo de acción se basa en la capacidad de este fármaco para ser reducido por las enzimas anaeróbicas presentes en los microorganismos susceptibles. Una vez reducido, el metronidazol se convierte en un compuesto reactivo que interfiere con el ADN bacteriano, causando daño en la estructura de la doble hélice del ADN. Este daño interrumpe la replicación y la síntesis de proteínas esenciales para la célula bacteriana, lo que lleva a la muerte celular de los patógenos. (27)

Específicamente, el metronidazol se activa solo en condiciones de bajo oxígeno (anaerobiosis), lo que lo hace altamente efectivo contra bacterias anaeróbicas estrictas, como *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides fragilis*, y *Fusobacterium nucleatum*, entre otros. Esto lo diferencia de otros antibióticos de amplio espectro, que no son tan específicos en su acción. (27)

Indicaciones Terapéuticas

El metronidazol se utiliza para tratar una amplia variedad de

infecciones, entre ellas:

Infecciones bacterianas anaeróbicas: Infecciones de tejidos blandos, infecciones intraabdominales (como apendicitis o peritonitis), infecciones ginecológicas y urológicas. (28)

Enfermedades periodontales: En la odontología, el metronidazol se utiliza para tratar infecciones periodontales causadas por bacterias anaeróbicas, especialmente en combinación con otros antibióticos (como la amoxicilina) para combatir la periodontitis crónica o la gingivitis. (28)

Infecciones por protozoos: Como en el caso de la tricomoniasis, giardiasis y amibiasis. (28)

Tratamiento de infecciones mixtas: El metronidazol es efectivo en infecciones causadas por una combinación de bacterias aerobias y anaerobias, siendo útil en infecciones como las úlceras pépticas asociadas a *Helicobacter pylori*. (28)

Farmacocinética del Metronidazol

La farmacocinética del metronidazol describe cómo el fármaco es absorbido, distribuido, metabolizado y excretado en el cuerpo:

Absorción: El metronidazol es bien absorbido por el tracto gastrointestinal tras su administración oral. Su biodisponibilidad es alta, alcanzando más del 90% tras la ingestión. (29)

Distribución: El metronidazol se distribuye ampliamente en los tejidos del cuerpo, incluida la saliva, los huesos, los pulmones, el hígado y los tejidos gingivales. De hecho, su concentración en los tejidos gingivales lo hace particularmente útil para tratar infecciones orales. (29)

Metabolismo: El metronidazol se metaboliza principalmente en el hígado, donde se convierte en varios metabolitos inactivos. Sin embargo, algunos de estos metabolitos pueden ser activos en ciertas bacterias anaeróbicas. (29)

Excreción: El metronidazol se excreta principalmente por la orina, tanto en forma de metabolitos como de pequeñas cantidades del fármaco sin cambios. En personas con insuficiencia renal, la eliminación puede verse retrasada, por lo que se debe ajustar la dosis. (29)

Efectos Secundarios y Toxicidad

El metronidazol generalmente es bien tolerado, pero puede causar varios efectos secundarios, especialmente cuando se usa en tratamientos prolongados o en altas dosis. Los efectos adversos más comunes incluyen:

Efectos gastrointestinales: Náuseas, vómitos, diarrea, sabor metálico en la boca. (29)

Efectos neurológicos: Mareos, cefaleas, confusión, neuropatías periféricas (en uso prolongado). (29)

Reacciones alérgicas: Erupciones cutáneas, urticaria. (29)

Interacciones con alcohol: El metronidazol puede inducir una reacción adversa grave si se consume alcohol durante el tratamiento (efecto conocido como "antabús"), lo que puede causar síntomas como enrojecimiento, sudoración, taquicardia, y náuseas. (29)

Toxicidad en el hígado: En casos raros, puede causar daño hepático, especialmente en pacientes con insuficiencia hepática. (29)

Aplicaciones clínicas en odontología

En odontología, el metronidazol es utilizado principalmente en el tratamiento de infecciones periodontales causadas por bacterias anaeróbicas, como *Porphyromonas gingivalis*. Se utiliza tanto en tratamientos sistémicos (oral o intravenoso) como tópicos (geles y cremas). Comúnmente se administra en combinación con otros antibióticos como amoxicilina para cubrir un espectro más amplio de patógenos en infecciones periodontales y otras infecciones orales. (30)

Porphyromonas gingivalis

Es una de las principales bacterias patógenas involucradas en el desarrollo de enfermedades periodontales crónicas, como la periodontitis. Esta bacteria gramnegativa, anaeróbica y no móvil juega un papel crucial en el daño a los tejidos periodontales y en la progresión de la enfermedad periodontal. A continuación, se desarrollan las bases teóricas de *P. gingivalis*, desde su biología hasta su rol patogénico en las enfermedades periodontales. (31)

Patogénesis de *Porphyromonas gingivalis*

Porphyromonas gingivalis es considerada una de las principales bacterias patógenas en la periodontitis crónica debido a su capacidad para inducir una respuesta inmune inflamatoria que causa daño a los tejidos periodontales, incluidos los ligamentos periodontales, el hueso alveolar y la encía. (31)

Formación de Biopelículas: *P. gingivalis* tiene la capacidad de formar biopelículas en la superficie dental y en las encías, lo que contribuye a su persistencia en el ambiente oral. Las biopelículas protegen a las bacterias

de la acción de antibióticos y de la respuesta inmunitaria, facilitando su persistencia a largo plazo en los tejidos orales. (31)

La interacción con otras especies bacterianas del microbiota oral también facilita la formación de estas biopelículas, haciendo que el tratamiento de la infección sea más desafiante. (31)

Adhesión e Invasión: *P. gingivalis* posee proteínas de adhesión, como las gingipainas (enzimas proteolíticas), que permiten que se adhiera a las células epiteliales de las encías, así como a otras bacterias patógenas en la cavidad bucal. Estas adhesinas permiten la colonización de las encías y los tejidos periodontales, lo que facilita la invasión de las células epiteliales y la profundización de la infección hacia los tejidos más profundos. (31)

Evasión de la respuesta inmune:

P. gingivalis tiene múltiples estrategias para evadir el sistema inmunológico del huésped. Estas incluyen la capacidad para interferir con la función de las células inmunitarias, como los neutrófilos, y la inducir una respuesta inflamatoria crónica que resulta en daño a los tejidos. La bacteria también inhibe la fagocitosis de los fagocitos, lo que dificulta la eliminación de las bacterias por parte del sistema inmune. Además, *P. gingivalis* puede inducir una respuesta inmune hipoinflamatoria en lugar de una respuesta efectiva, lo que le permite persistir en el huésped durante períodos largos. (31)

Inflamación y daño tisular:

Las proteínas de superficie, como las gingipainas, pueden modificar las respuestas inmunológicas y aumentar la inflamación crónica en los tejidos periodontales. Esta inflamación prolongada puede llevar a la destrucción del tejido periodontal, que incluye la pérdida de hueso alveolar, el desprendimiento de las encías y la pérdida de los dientes en etapas avanzadas de la periodontitis. (32)

Factores de riesgo y contribución a la enfermedad periodontal

La infección por *P. gingivalis* no solo depende de la presencia de la bacteria, sino también de una serie de factores de riesgo, como la predisposición genética, la higiene bucal deficiente, el consumo de tabaco, la diabetes y la inmunosupresión, entre otros. Estos factores facilitan la colonización y el crecimiento de *P. gingivalis* en la cavidad oral, lo que aumenta la probabilidad de desarrollar enfermedades periodontales. (32)

Higiene bucal deficiente: La acumulación de placa dental es el medio ideal para la proliferación de *P. gingivalis* y otras bacterias anaeróbicas,

contribuyendo a la progresión de la periodontitis. (32)

Tabaquismo: El tabaco favorece la formación de biopelículas y altera la respuesta inmune, lo que puede aumentar la virulencia de *P. gingivalis* y la gravedad de la enfermedad periodontal. (32)

Diabetes: Las personas con diabetes tienen un mayor riesgo de desarrollar infecciones periodontales debido a su respuesta inmunitaria comprometida y sus niveles alterados de glucosa en sangre. (32)

Diagnóstico y Tratamiento

Diagnóstico: El diagnóstico de infecciones causadas por *P. gingivalis* se realiza mediante técnicas microbiológicas como la siembra en medios anaeróbicos, PCR (reacción en cadena de la polimerasa) para detectar el ADN bacteriano, y cultivo de muestras de placa subgingival. (32)

Tratamiento: El tratamiento de la infección por *P. gingivalis* generalmente incluye el uso de antibióticos, como metronidazol o amoxicilina, para controlar la proliferación bacteriana. Además, el tratamiento periodontal, que incluye raspado y alisado radicular para eliminar la placa bacteriana y las biopelículas, es fundamental para reducir la carga bacteriana y mejorar la salud periodontal. (32)

Las resinas compuestas son materiales de restauración dental que se utilizan comúnmente en odontología para reparar dientes dañados por caries o fracturas. Estas resinas tienen diversas ventajas, como su capacidad para adaptarse al color natural de los dientes, lo que las hace estéticamente atractivas. (32)

Composición

Las resinas compuestas están formadas por una mezcla de una matriz orgánica (generalmente, una resina acrílica o epóxica) y partículas inorgánicas (como el vidrio o cuarzo) que proporcionan resistencia y durabilidad. Además, suelen contener un iniciador que activa la polimerización (curado) del material. (32)

Matriz orgánica: Es el componente principal de la resina compuesta y se encarga de unificar los materiales. Generalmente está compuesta por resinas de bisfenol-A-glicidilmetacrilato (Bis- GMA) o metacrilato. La matriz orgánica determina las propiedades de manipulación y fluidez del material. (32)

Rellenos inorgánicos: Son partículas pequeñas, generalmente de vidrio o cuarzo, que se agregan para mejorar la resistencia, durabilidad y

abrasividad de la resina. Los tamaños y tipos de estos rellenos afectan la estética, la resistencia y la facilidad de pulido del material. (32)

Definición de términos básicos

Porphyromonas gingivalis: Esta bacteria gramnegativa, anaeróbica y no móvil juega un papel crucial en el daño a los tejidos periodontales y en la progresión de la enfermedad periodontal. A continuación, se desarrollan las bases teóricas de P. gingivalis, desde su biología hasta su rol patogénico en las enfermedades periodontales. (31)

Metronidazol: Es un medicamento antimicrobiano ampliamente utilizado en el tratamiento de infecciones causadas por microorganismos anaeróbicos y algunos protozoos. (27)

Tocosh: El Tocosh como planta, contiene compuestos químicos que benefician al tracto gastrointestinal, gracias a sus componentes terpenoides, flavonoides y alcaloides, los cuales tienen propiedades protectoras sobre la mucosa gástrica. (23)

Extracto etanólico de Tocosh: Se refiere a la extracción con etanol para concentrar y obtener compuestos químicos orgánicos sintéticos del Tocosh. El extracto etanólico facilita la obtención de sustancias con efectos específicos en nuestro organismo. (19)

Fenoles y flavonoides: Estos compuestos, comunes en alimentos fermentados, tienen un potente efecto antioxidante y antiinflamatorio. Los flavonoides, en particular, son conocidos por su capacidad para neutralizar los radicales libres, lo que puede proteger las células del daño oxidativo. (24)

Efecto antibacteriano contra Porphyromonas gingivalis ATCC 33277: Consiste en eliminar o reducir la presencia de compuestos o microorganismos patógenos como Porphyromonas gingivalis ATCC 33277. (24)

Capítulo II: Materiales y métodos

2.1 Identificación de variables

Extracto etanólico de Tocosh: Se refiere a la extracción con etanol para concentrar y obtener compuestos químicos orgánicos sintéticos del Tocosh. El extracto etanólico facilita la obtención de sustancias con efectos específicos en nuestro organismo. (19)

Efecto antibacteriano contra *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277: Consiste en eliminar o reducir la presencia de compuestos o microorganismos patógenos como *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277.

2.2 Métodos, tipo y nivel de la investigación

2.2.1 Método de la investigación

Conforme Hernández et al. (33) este estudio usó el método científico donde consistió en explorar y responder preguntas para probar una hipótesis.

2.2.2 Tipo de la investigación

De acuerdo Hernández et al. (33) la investigación fue aplicada porque se centró en resolver una problemática específica, buscando y consolidando una solución práctica.

2.2.3 Alcance de la investigación

Conforme Hernández et al. fue (33) explicativo, porque tuvo relación causal; no solo persiguió representarse o aproximarse a una problemática, sino que intentó hallar las causas de este.

2.4 Diseño de la investigación

De acuerdo Hernández et al. (33) fue experimental porque se manipuló las variables, observacional porque se evaluó de forma directa, prospectivo porque se evaluó en un determinado tiempo presente, longitudinal porque las evaluaciones se dieron en diferentes tiempos establecidos, comparativo porque comparó resultados de los grupos de evaluación.

2.5 Población y muestra

2.5.1 Población

La población fueron placas petri con cepas de *Porphyromonas gingivalis*.

2.5.2 Muestra

El cálculo para el número de muestra se realizó de

acuerdo con la fórmula de comparación de medias:

$$n = \frac{W - (W^2 * Z_{\beta}) + (1,4 * Z_{\alpha}^2)}{W^2}$$

Dónde:

n = Número mínimo de muestras, observaciones o réplicas que deben efectuarse en el estudio.

Z α = Valor correspondiente al nivel de confianza asignado (Riesgo de cometer un error tipo I). $Z_{\alpha} = 1,96$

Z β = Valor correspondiente al poder estadístico o potencia asignada a la prueba (Riesgo de cometer un error tipo II). $Z_{\beta} = 0,842$

W = Rendimiento mínimo esperado, eficiencia mínima esperada o diferencia mínima observable. $W = 0,80$ (80%)

$$n = \frac{0,80 - (0,80^2 * 0,842) + (1,4 * 1,96^2)}{0,80^2}$$

$$N = 8,8115$$

Al resolver la ecuación, se obtuvo el número de ensayos mínimos de 9 ensayos, por cada grupo.

A. Criterios de inclusión

- Placas de Petri inoculadas uniformemente con la cepa *P. gingivalis* ATCC 33277.
- Extracto etanólico estériles de Tocosh (25%, 50%, 75% y 100%).

B. Criterios de exclusión

- Placas de Petri con cepa *P. gingivalis* ATCC 33277 contaminadas.
- Extracto etanólico de Tocosh en concentraciones diferentes a las especificadas.
- Cultivos que no determinaron parámetros ya establecidos de tiempo y temperatura.

2.6 Técnicas e instrumentos de recolección y análisis de datos

2.6.1 Técnicas

En el actual análisis se usó la técnica de la observación aplicando una ficha para recopilar datos. (33)

La técnica de observación es un método de investigación en el cual el investigador recoge datos de manera sistemática y detallada, observando el comportamiento, fenómeno o evento de

interés sin intervenir o influir directamente en él. Se utiliza principalmente en estudios cualitativos y en situaciones en las que no es posible o ético realizar experimentos controlados. (33)

2.6.2 Instrumento de recolección de datos

A. Diseño

El instrumento fue una ficha de recolección de datos que documentó los resultados de los halos de inhibición producidos por las sustancias en estudio sobre *P. gingivalis* ATCC 33277. (Anexo N° 5).

B. Confiabilidad

La confiabilidad del instrumento se verificó con semejanza a los trabajos de Ñaupá; Torres y Vega (26,27). (Anexo N° 7)

C. Validez

La validez se verificó mediante el experto de microbiología. (Anexo N° 4 y 5)

2.6.3 Procedimiento de la investigación

El procedimiento para la obtención del extracto etanólico se realizó de acuerdo con la metodología propuesta por Enciso et al. (19)

La muestra entregada al Laboratorio fue adquirida en el Mercado de Huancayo y almacenada en un recipiente plástico con un peso total de 2 kilogramos. Debido a que se trató de un producto fermentado, la muestra se procesó directamente sin secado previo.

Se preparó una solución hidroalcohólica de concentración 60% utilizando alcohol éflico de 96° y agua biodestilada. La muestra se distribuyó en dos recipientes de vidrio de 20 litros cada uno, manteniendo una proporción de 1:10 entre la muestra y el volumen de solución hidroalcohólica (1 kg de muestra en 10 litros de solución). El proceso de extracción se llevó a cabo durante 8-10 días, con movimientos de homogenización realizados diariamente.

Al décimo día, se filtró la mezcla, recolectando el filtrado en beakers de 5 litros que se colocaron en un baño maría a 40° C hasta la completa evaporación del solvente. El extracto resultante fue raspado del beaker, pesado, transferido y etiquetado en un recipiente de vidrio, y luego almacenado a 8°C hasta su entrega.

Procedimiento microbiológico

La obtención de la cepa utilizadas para evaluar la actividad antimicrobiana proviene de la American Type Culture Collection (ATCC), una

referencia internacional. En este caso, se utilizó la cepa de *P. gingivalis* ATCC 33277 del Laboratorio Gen Lab del Perú S.A.C.

El cultivo de las cepas se realizó en un laboratorio de Microbiología particular. Antes del cultivo, la cepa, que estuvo almacenado a -80°C , fue reactivada 48 horas antes del experimento y luego mantenida a 37°C . Las cepas y condiciones de crecimiento bacteriano se siguió el proceso descrito por Carrol et al. (11).

Se prepararon 20 placas de medio Brain Heart Infusion (BHI), cada una con 15 ml del medio. Luego se sembró selectivamente la cepa en el medio de cultivo Agar BHI utilizando la técnica de hisopado. El inoculado de placas fue de acuerdo con la metodología de Ponce, por hisopado en placas Petri.

Para preparar los orificios donde se depositó el extracto de Tocosh (ET) y la clorhexidina, se utilizó un sacabocados de 6 mm de diámetro. En cada placa se hicieron 5 pozos equidistantes, que se llenaron con 35 μl de ET al 25%, 50%, 75% y 100%, respectivamente. Como control, se utilizó 35 μl de clorhexidina al 0.12%. Los pozos se colocaron inmediatamente en los medios de cultivo para evaluar la actividad antimicrobiana. Las placas se incubaron a 37°C durante 24 horas, y luego se procedió a la lectura. El colocar discos con aceite esencial, de acuerdo con Ponce se realizó con discos en blanco estériles.

Para el control negativo se utilizó discos con Metronidazol.

La actividad antimicrobiana se evaluó por la formación de halos de inhibición alrededor de los orificios. La medición del diámetro de estos halos se realizó con una regla vernier, expresando el tamaño en milímetros.

Para la evaluación estadística, se calcularon medias y desviaciones estándar como medidas de tendencia central, acompañadas de un análisis descriptivo. La normalidad de las distribuciones se verificó utilizando la prueba de Shapiro-Wilk, mientras que la homogeneidad de varianzas se examinó mediante la prueba de Wilcoxon. Los análisis inferenciales se llevaron a cabo utilizando la prueba de U de Mann Whitney con diferencias específicas entre grupos evaluados. Las operaciones estadísticas se realizaron usando SPSS v27, estableciendo los niveles de significancia estadística pertinentes.

2.7 Consideraciones éticas

El estudio fue remitido al Comité de Ética en Investigación de la Universidad Continental para ser evaluado y obtener su conformidad.

Posteriormente, se requirió las licencias del laboratorio para realizar las pruebas correspondientes.

Esta investigación estuvo regida por el mantenimiento estricto de las normas acordes al Protocolo de Bioseguridad en Laboratorios. Además, se consideró el Manual de Bioseguridad en el Laboratorio según la OMS para el mantenimiento estricto y permanente de las normas de bioseguridad en el estudio. Ya que es un estudio in vitro, no se tuvo contacto con seres humanos por lo que no se necesitó un consentimiento informado.

Este estudio carece de implicaciones éticas ya que se trató de un experimento realizado en un entorno in vitro, utilizando materiales de laboratorio.

Capítulo III: Resultados

3.1 Presentación de resultados

Tabla 1: Efecto antibacteriano de las concentraciones del extracto etanólico de tocosh (n=36) frente a *Porphyromonas gingivalis* a las 24 horas de estudio

Sustancia de prueba	mm	X Duraffourd*	DE	Min	Máx.
Extracto etanólico de tocosh al 100%	17,21	(++)	1,433	14,16	19,16
Extracto etanólico de tocosh al 75%	12,48	(+)	0,563	11,23	14,07
Extracto etanólico de tocosh al 50%	0,00	(-)	0,00	0,00	0,00
Extracto etanólico de tocosh al 25%	0,00	(-)	0,00	0,00	0,00
Metronidazol	23,33	(+++)	1,316	21,07	26,86

(*) Escala de sensibilidad de Duraffourd: Nula (-): 0 a 8 mm; Sensible (+): 8 - 14 mm; Muy sensible (++) : 14 - 20 mm.; Sumamente sensible (+++): 20 mm a más.

Interpretación: En la tabla 1 se observó que los extractos etanólicos de Tocosh al 75% y 100% presentaron un promedio de halo de inhibición de $17,21 \pm 1,433$ mm y de $12,48 \pm 0,563$ mm, respectivamente, frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 a las 24 horas de estudio. Las concentraciones de los extractos etanólicos de tocosh al 25% y 50% no registraron actividad antibacteriana. Por otro lado, el metronidazol obtuvo un promedio de $23,33 \pm 1,316$ mm frente a *P. gingivalis*. Por lo tanto, se puede decir que *P. gingivalis* fue muy sensible (++) y sensible (+), según la escala de Duraffourd, al extracto etanólico de Tocosh al 100% y 75%, respectivamente, mientras que para las concentraciones de extracto etanólico de Tocosh al 25% y 50 %, *P. gingivalis* no presentó sensibilidad. Sin embargo, *P. gingivalis* fue sumamente sensible (+++) al metronidazol.

Tabla 2: Efecto antibacteriano de las concentraciones del extracto etanólico de tocosh (n=36) frente a *Porphyromonas gingivalis* a las 48 horas de estudio

Sustancia de prueba	X mm	X Duraffourd*	DE	Min	Max.
Extracto etanólico de tocosh al 100%	17,03	(++)	1,434	13,95	18,95
Extracto etanólico de tocosh al 75%	12,30	(+)	0,570	11,03	13,85
Extracto etanólico de tocosh al 50%	0,00	(-)	0,00	0,00	0,00
Extracto etanólico de tocosh al 25%	0,00	(-)	0,00	0,00	0,00
Metronidazol	23,14	(+++)	1,312	20,89	26,65

(*) Escala de sensibilidad de Duraffourd: Nula (-): 0 a 8 mm; Sensible (+): 8 - 14 mm; Muy sensible (++) : 14 - 20 mm.; Sumamente sensible (+++): 20 mm a más.

Interpretación: En la tabla 2 se observó que los extractos etanólicos de Tocosh al 75% y 100% presentaron un promedio de halo de inhibición de $17,03 \pm 1,434$ mm y de $12,30 \pm 0,570$ mm, respectivamente, frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 a las 48 horas de estudio. Las concentraciones de los extractos etanólicos de tocosh al 25% y 50% no registraron actividad antibacteriana. Por otro lado, el metronidazol obtuvo un promedio de $23,14 \pm 1,312$ mm frente a *P. gingivalis*. Por lo tanto, se puede decir que *P. gingivalis* fue muy sensible (++) y sensible (+), según la escala de Duraffourd, al extracto etanólico de Tocosh al 100% y 75%, respectivamente, mientras que para las concentraciones de extracto etanólico de Tocosh al 25% y 50 %, *P. gingivalis* no presentó sensibilidad. Sin embargo, *P. gingivalis* fue sumamente sensible (+++) al metronidazol.

Tabla 3: Efecto antibacteriano de las concentraciones del extracto etanólico de tocosh (n=36) frente a *Porphyromonas gingivalis* a las 72 horas del estudio

Sustancia de prueba	X mm	X Duraffourd*	DE	Min	Máx.
Extracto etanólico de tocosh al 100%	16,85	(++)	1,425	13,71	18,72
Extracto etanólico de tocosh al 75%	12,10	(+)	0,565	10,86	13,63
Extracto etanólico de tocosh al 50%	0,00	(-)	0,00	0,00	0,00
Extracto etanólico de tocosh al 25%	0,00	(-)	0,00	0,00	0,00
Metronidazol	22,94	(+++)	1,322	20,76	26,47

(*) Escala de sensibilidad de Duraffourd: Nula (-): 0 a 8 mm; Sensible (+): 8 - 14 mm; Muy sensible (++) : 14 - 20 mm.; Sumamente sensible (+++): 20 mm a más.

Interpretación: En la tabla 3 se observó que los extractos etanólicos de Tocosh al 75% y 100% presentaron un promedio de halo de inhibición de $16,85 \pm 1,425$ mm y de $12,10 \pm 0,565$ mm, respectivamente, frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 a las 72 horas de estudio. Las concentraciones de los extractos etanólicos de tocosh al 25% y 50% no registraron actividad antibacteriana. Por otro lado, el metronidazol obtuvo un promedio de $22,94 \pm 1,322$ mm frente a *P. gingivalis*. Por lo tanto, se puede decir que *P. gingivalis* fue muy sensible (++) y sensible (+), según la escala de Duraffourd, al extracto etanólico de Tocosh al 100% y 75%, respectivamente, mientras que para las concentraciones de extracto etanólico de Tocosh al 25% y 50 %, *P. gingivalis* no presentó sensibilidad. Sin embargo, *P. gingivalis* fue sumamente sensible (+++) al metronidazol.

Tabla 4: Análisis de normalidad por Shapiro Wilk (n=36) de las concentraciones de extractos etanólicos de Tocosh frente a *Porphyromonas gingivalis* en los tres períodos de estudio

Sustancia de prueba	Valor p		
	24 horas	48 horas	72 horas
Extracto etanólico de tocosh al 100%	0,001	0,001	0,001
Extracto etanólico de tocosh al 75%	0,345	0,205	0,108
Extracto etanólico de tocosh al 50%	No calculable	No calculable	No calculable
Extracto etanólico de tocosh al 25%	No calculable	No calculable	No calculable
Metronidazol	0,105	0,092	0,085

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

Interpretación: Según la tabla 4, se infirió que los resultados de los halos de inhibición a las 24, 48 y 72 horas de incubación frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 presentaron una distribución normal para el extracto etanólico de Tocosh al 75% ($p > 0,05$) y para el metronidazol ($p > 0,05$). Sin embargo, el extracto etanólico de Tocosh al 100% no presentó distribución normal ($p < 0,05$). Por lo tanto, como se presentaron grupos de datos con distribución normal y no normal, se recomendó usar estadísticos no paramétricos para analizar los resultados como las pruebas de U de Mann Whitney y Wilcoxon.

Tabla 5: Comparación en parejas de la efectividad de sustancias de prueba en los tres tiempos de estudio

Sustancia de prueba	Prueba de Mann Whitney (p)		
	24 horas	48 horas	72 horas
E.E. tocosh al 100% vs E.E. tocosh al 75%	0,000	0,000	0,000
E.E. tocosh al 100% vs E.E. tocosh al 50%	0,000	0,000	0,000
E.E. tocosh al 100% vs E.E. tocosh al 25%	0,000	0,000	0,000
E.E. tocosh al 100% vs Metronidazol	0,000	0,000	0,000
E.E. tocosh al 75% vs E.E. tocosh al 50%	0,000	0,000	0,000
E.E. tocosh al 75% vs E.E. tocosh al 25%	0,000	0,000	0,000
E.E. tocosh al 75% vs Metronidazol	0,000	0,000	0,000
E.E. tocosh al 50% vs E.E. tocosh al 25%	1,000	1,000	1,000
E.E. tocosh al 50% vs Metronidazol	0,000	0,000	0,000
E.E. tocosh al 25% vs Metronidazol	0,000	0,000	0,000

Nivel de significancia estadística: $\alpha = 0,05$

Interpretación: Según tabla 5, se puede observar que existen diferencias significativas entre todas las concentraciones del extracto etanólico de tocosh entre sí y también con el control de ensayo, metronidazol, a las 24, 48 y 72 horas de estudio ($p < 0,05$). Sin embargo, no se observó diferencias significativas entre los extractos etanólicos de tocosh al 50% y 25% ($p > 0,05$).

Tabla 6: Análisis de varianzas según los tiempos de estudio de las concentraciones del extracto etanólico de Tocosh sobre Porphyromonas gingivalis según prueba de Wilcoxon

Sustancia de prueba	Valor p		
	Prueba de Wilcoxon		
	24 y 48 horas	48 y 72 horas	24 y 72 horas
Extracto etanólico de tocosh al 100%	0,000	0,000	0,000
Extracto etanólico de tocosh al 75%	0,000	0,000	0,000
Extracto etanólico de tocosh al 50%	1,000	1,000	1,000
Extracto etanólico de tocosh al 25%	1,000	1,000	1,000
Metronidazol	0,000	0,000	0,000

Nivel de significancia estadística: $\alpha = 0,05$

Interpretación: Según la tabla 6, se observaron, para los extractos etanólicos de tocosh al 100%, 75% y metronidazol, altas diferencias significativas entre los resultados a las 24, 48 y 72 horas ($p < 0,05$). Sin embargo, esto no se observó en los resultados para los tres tiempos de estudio de los extractos etanólicos de tocosh al 50% y 25% ($p > 0,05$). Por lo cual, si se contrasta esta tabla con las figuras N° 1, 2 y 3, se puede decir que a las 24 horas se presentó el mayor efecto antibacteriano tanto para las concentraciones de extracto etanólico de tocosh al 100% y 75%, como para el metronidazol.

Capítulo IV: Discusión

En los resultados se observó que a las 24 horas de estudio los extractos etanólicos de Tocosh al 75% y 100% presentaron un promedio de halo de inhibición de $17,21 \pm 1,433$ mm y de $12,48 \pm 0,563$ mm frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. Las concentraciones de los extractos etanólicos de tocosh al 25% y 50% no registraron actividad antibacteriana. Por otro lado, el metronidazol obtuvo un promedio de $23,33 \pm 1,316$ mm frente a *P. gingivalis*. En referencia a las 48 horas de estudio los extractos etanólicos de Tocosh al 75% y 100% presentaron un promedio de halo de inhibición de $17,03 \pm 1,434$ mm y de $12,30 \pm 0,570$ mm frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. Las concentraciones de los extractos etanólicos de tocosh al 25% y 50% no registraron actividad antibacteriana. Por otro lado, el metronidazol obtuvo un promedio de $23,14 \pm 1,312$ mm frente a *P. gingivalis*. En referencia a las 72 horas de estudio los extractos etanólicos de Tocosh al 75% y 100% presentaron un promedio de halo de inhibición de $16,85 \pm 1,425$ mm y de $12,10 \pm 0,565$ mm frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 a las 72 horas de estudio. Las concentraciones de los extractos etanólicos de tocosh al 25% y 50% no registraron actividad antibacteriana. Por otro lado, el metronidazol obtuvo un promedio de $22,94 \pm 1,322$ mm frente a *P. gingivalis*. Al aplicar la prueba de Wilcoxon se evidenció que los extractos etanólicos de tocosh al 100%, 75% y metronidazol, presentaron altas diferencias significativas entre los resultados a las 24, 48 y 72 horas ($p < 0,05$). Sin embargo, esto no se observó en los resultados para los tres tiempos de estudio de los extractos etanólicos de tocosh al 50% y 25% ($p > 0,05$). Por lo cual, se evidenció que a las 24 horas se presentó el mayor efecto antibacteriano tanto para las concentraciones de extracto etanólico de tocosh al 100% y 75%, como para el metronidazol.

Comparando estos resultados con estudios previos, como el de Azeez et al. (7), que encontraron que *P. gingivalis* puede persistir con tolerancia a varios fármacos, es importante notar que, aunque el extracto de Tocosh muestra un efecto antibacteriano, este no necesariamente implica que sea completamente efectivo en todos los modos de crecimiento bacteriano, como en biopelículas, las cuales son conocidas por ofrecer mayor resistencia a los tratamientos antimicrobianos.

A su vez, también contrasta con lo hallado por Carrol et al. (8), sobre las

especies vegetales con actividad contra *P. gingivalis* también respalda la idea de que los extractos vegetales, incluidos los de *Tocosh*, tienen potencial como alternativas naturales en la lucha contra infecciones periodontales.

Por otro lado, el metronidazol sigue siendo el estándar de tratamiento para infecciones por *P. gingivalis*, pero la aparición de resistencia bacteriana y los efectos secundarios asociados con su uso prolongado resaltan la necesidad de investigar alternativas naturales. La combinación de extractos vegetales con metronidazol, como se observó en estudios anteriores, podría ser una estrategia interesante para mejorar la eficacia antibacteriana y reducir los efectos secundarios asociados a los tratamientos convencionales.

Por otro lado, las concentraciones más bajas del extracto etanólico de *Tocosh* (25% y 50%) no mostraron actividad antibacteriana significativa, lo que se alinea con la evidencia de que muchos extractos vegetales requieren concentraciones más altas para generar un efecto antimicrobiano apreciable. Esto es consistente con estudios previos, como el de Paquiyauri et al. (15) en el que se encontró que concentraciones más altas de extractos etanólicos, como el de *Physalis peruviana* (aguaymanto), fueron necesarias para inhibir bacterias patógenas orales, aunque estos extractos no superaron la eficacia de los antibióticos convencionales como la clorhexidina.

Los resultados de la prueba de Wilcoxon muestran diferencias significativas en la actividad antibacteriana de los extractos al 75% y 100%, tanto en comparación con los otros tiempos de exposición como con el control positivo (metronidazol), lo que indica que estas concentraciones de extracto etanólico de *Tocosh* tienen un efecto antibacteriano potente que puede ser útil para el tratamiento de infecciones bacterianas orales en etapas tempranas. No obstante, se debe tener en cuenta que las concentraciones más bajas no fueron efectivas, lo que sugiere que el extracto necesita ser concentrado para lograr un efecto relevante, tal como se observa en estudios sobre otras plantas medicinales, como el de Tello (17) y Quiroz (16), que encontraron que la efectividad de los extractos aumentaba significativamente con la concentración.

En los resultados se observó que a las 24 horas de estudio los extractos etanólicos de *Tocosh* al 75% y 100% presentaron un promedio de halo de inhibición de $17,21 \pm 1,433$ mm y de $12,48 \pm 0,563$ mm frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 contrastando con la investigación de Enciso et al. (19) y Gamboa (20) que evaluaron el extracto etanólico de *Tocosh* en concentraciones altas (75% y 100%), los resultados de este estudio son consistentes, ya que también mostraron halos de

inhibición en esos rangos de concentración. Este hallazgo resalta el potencial del Tocosh como un agente antimicrobiano viable contra *P. gingivalis*, especialmente en concentraciones superiores al 50%. Sin embargo, la actividad disminuida con el tiempo también apunta a la necesidad de investigar formas de estabilizar o potenciar su acción, tal vez mediante la formulación en combinación con otros compuestos activos, como se ha propuesto en estudios previos con extractos de jengibre (Aynaya et al., 18) o *Solanum tuberosum*.

El uso de extractos de plantas en el tratamiento de infecciones periodontales ha sido ampliamente documentado, y los resultados de este estudio están en línea con la literatura actual que investiga alternativas naturales frente al uso excesivo de antibióticos. El extracto de Tocosh presenta ciertas ventajas, como ser una fuente accesible y natural, que podría ser útil en la creación de productos farmacéuticos de higiene bucal o tratamientos adyuvantes en la terapia de infecciones periodontales.

En conclusión, aunque el extracto etanólico de Tocosh al 75% y 100% muestra una actividad antibacteriana significativa frente a *P. gingivalis* en el corto plazo, sus efectos disminuyen con el tiempo. A pesar de ello, su potencial como alternativa terapéutica natural debe seguir siendo explorado, especialmente en combinación con otros agentes o formulaciones para prolongar su efectividad. Este estudio respalda la idea de que los extractos vegetales tienen un valor terapéutico emergente, aunque todavía queda por investigar su eficacia en situaciones clínicas reales, como la prevención de la periodontitis o el tratamiento de biopelículas bacterianas, un desafío clave en la medicina dental.

Conclusiones

1. - Se concluyó que al analizar el efecto antibacteriano in vitro de las concentraciones del extracto etanólico de Tocosh al 25%, 50%, 75% y 100% a las 24, 48 y 72 horas existe diferencias significativas, en comparación con el Metronidazol, frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, siendo los extractos etanólicos de Tocosh al 75% y 100% los que mostraron mayor efecto antibacteriano.

2.- Sin embargo, no se observó efecto antibacteriano para los extractos etanólicos al 50% y 25%.

3.- Además, el extracto etanólico de tocosh al 100% es quién presentó mayor efecto antibacteriano de las concentraciones de prueba después del metronidazol.

4.- El tiempo de estudio de 24 horas es donde se obtuvo mayor efecto antibacteriano frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 comparado con las 48 y 72 horas de estudio en la presente investigación in vitro, tanto para los extractos etanólicos de tocosh al 75%, 100% y el antibiótico metronidazol.

Recomendaciones

Realizar más estudios experimentales sobre el efecto antibacteriano del extracto etanólico de tocosh frente a otras cepas bacterianas que habitan en cavidad oral.

Realizar más estudios con un mayor tamaño muestral para evidenciar efectos antibacterianos más significativos sobre el extracto etanólico de tocosh frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277.

Desarrollar estudios de revisión sistemática sobre el efecto antibacteriano del extracto etanólico de tocosh en enfermedades orales.

Desarrollar estudios comparativos entre extractos etanólicos para contrastar resultados del efecto antibacteriano en cepas de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277.

Bibliografía

1. Kumar R, Mirza M, Naseef P, Kuruniyan M, Zakir F, Aggarwal G. Exploring the Potential of Natural Product-Based Nanomedicine for Maintaining Oral Health. *Molecules*. 2022;27(5): 1725.
2. Enciso S, Medina J, Mauricio F, Vilchez C, Temoche D, Vilchez L, et al. Antibacterial Effectiveness of Four Concentrations of the Hydroalcoholic Extract of *Solanum tuberosum* (Tocosh) against *Streptococcus mutans* ATCC 25175TM: A Comparative In Vitro Study. *Int J Dent*. 2020;1(1): 1-10.
3. Giurazza R. merging Treatment Options for Multi-Drug-Resistant Bacterial Infections. *Life*. 2021;11(6): 519.
4. Ramirez L, Castaño D. Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Sci Tech*. 2009;25(42): 263-8.
5. Mosaddad S, Tahmasebi E, Yazdani A, Rezvani M, Seifalian A, Yazdani M, et al. Oral microbial biofilms: an update. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019;38(11): 2005-2019.
6. Fakhrudin K, Chi Ngo H, Samaranayake L. Cariogenic microbiome and microbiota of the early primary dentition: A contemporary overview. *Oral Dis*. 2019;25(4):982-95.
7. Azeez S, Gaphor S. Evaluation of Antibacterial Effect against *Porphyromonas gingivalis* and Biocompatibility of Essential Oil Extracted from the Gum of *Pistacia atlantica* Kurdica. *BioMed Res Int*. 2019;1(1): 9195361.
8. Carrol D, Chassagne F, Dettweiler M, Quave C. Antibacterial activity of plant species used for oral health against *Porphyromonas gingivalis*. *PLOS ONE*. 2020;15(10): 0239316.
9. Fajriani S, Hendrastuti H, Dekarini D. The Role of Green Tea Extract on Inhibiting *Porphyromonas gingivalis* as a Major Periodontitis Pathogen: In Vitro Study: Systematic Reviews in Pharmacy; 2020.
10. Gaphor S, Azeez S. Evaluation of Antibacterial Effect against *Porphyromonas gingivalis* and Biocompatibility of Essential Oil Extracted from the Gum of *Pistacia atlantica* Kurdica. *BioMed Res Int*. 2019;1(1): 1-10.

11. Ferreira M, Freitas O, Aires C. Antimicrobial effect of a local release system containing metronidazole against a Porphyromonas gingivalis biofilm. Pharmazie. 2019 Noviembre; 1;74(11):665-666.
12. Widyarman A, Lay S, Wendhita I, Tjakra E, Murdono F, Binartha C. Indonesian Mangosteen Fruit (Garcinia mangostana L.) Peel Extract Inhibits Streptococcus mutans and Porphyromonas gingivalis in Biofilms In vitro. Contemp Clin Dent. 2019;10(1):123.
13. Azizah S, Sinar Y, Sjarif I, Masyudhi M, Endang S. Effect of Ethanol Extract of Eleutherine bulbosa (Mill.) URB on Anaerobic Bacterial Prophyromonas gingivalis In Vitro. J Trop Pharm Chem. 2018;4(3): 128-35.
14. Minasari D. The Effectivity of Lemongrass (Cymbopogon Citratus) Extract Against Porphyromonas Gingivalis ATCC® 33277TM (IN-VITRO). En Atlantis Press. 2018;1(1): 169-72.
15. Paquiyauri F, Rojas K. Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de frutos de physalis peruviana L. (Aguaymanto) frente a Streptococcus mutans ATCC 25175 y Staphylococcus aureus ATCC 25923. Tesis. Universidad Maria Auxiliadora; 2023.
16. Quiroz S. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de Cordia lutea Lam (flor de overo) frente a Streptococcus mutans. Tesis. Trujillo:, Odontología; 2023.
17. Tello S. Efecto antimicrobiano in vitro del extractor de zingiber officinale (jengibre) sobre las bacterias periodontopatógenas, 2021. Tesis. Universidad Continental; 2023.
18. Aynaya E, Machicao J, Nina R. Efecto antimicrobiano del aceite esencial de jengibre sobre cepas de Enterococcus faecalis in vitro, Arequipa 2022. Tesis. Arequipa: Universidad Continental, Odontología; 2022.
19. Enciso S, Medina J, Mauricio F, Vilchez C, Temoche D, Vilchez L, et al. Antibacterial Effectiveness of Four Concentrations of the Hydroalcoholic Extract of Solanum tuberosum (Tocosh) against Streptococcus mutans ATCC 25175TM: A Comparative In Vitro Study. Int J Dent. 2020; 1(1): 1-5.
20. Gamboa L. Efecto antibacteriano del Extracto etanólico de Solanum tuberosum (chuño negro) frente a Streptococcus mutans, 2019. Tesis. Trujillo: Universidad Nacional De Trujillo, Odontología; 2019.
21. Vergara K, Chugden K. Efecto antibacteriano del extracto Etanólico de propóleo de Cajamarca frente a colonias de Porphyromonas gingivalis (ATCC

- 33277) in vitro. Tesis de grado. Universidad Privada Antonio Guillermo Urrulo; 2018.
22. Yoshimasu Y, Ikeda T, Sakai N, Yagi A, Hirayama S, Morinaga Y, et al. Rapid Bactericidal Action of Propolis against *Porphyromonas gingivalis*. *J Dent Res*. 2018; 97(8):928-36.
 23. Núñez F. Tocosh: Penicilina natural de los andes y sus beneficios en la salud general. *Medicina naturista*. 2023; 17(2):5-7.
 24. Mayta F. Development of new experimental dentifrice of peruvian solanum tuberosum (Tocosh) fermented by water stress: Antibacterial and cytotoxic activ. *J Contemp Dent Pract*. 2019; 20(10):1206-11.
 25. Mamani H. Efecto antibacteriano del tocosh de papa (*Solanum tuberosum* Var. Hualash) sobre *Salmonella* entérica subespecie entérica serovar Typhimurium ATCC 13311. *Revista Lasallista de investigación*. 2022; 19(2):49-62.
 26. Zuniga R. Producción de pan a partir de tocosh de papa (*Solanum tuberosum*) para el mercado nacional. Tesis. Lima: Universidad Cesar Vallejo, Ingeniería y agricultura; 2018.
 27. Ceruelos A. Therapeutic uses of metronidazole and its side effects: an update. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2019; 23(1):397-401.
 28. Leistch D. A review on metronidazole: an old warhorse in antimicrobial chemotherapy. *Parasitology*. 2019; 146(9):1167-1178.
 29. Löfmark S. Metronidazole is still the drug of choice for treatment of anaerobic infections. *Clinical infectious diseases*. 2010; 50(1):16-23.
 30. Mehravani M. Effects of Local and Systemic Metronidazole as Adjunctive Treatment in Chronic Periodontitis Patients. *Clinical and Experimental Dental Research*. 2024; 10(6):70050.
 31. Reyes L. *Porphyromonas gingivalis*. *Trends in Microbiology*. 2021; 29(4):376-377.
 32. Bregaint S. *Porphyromonas gingivalis* outside the oral cavity. *Odontology*. 2022; 110(1):1-19.
 33. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la Investigación. México: McGraw-Hill; 2001. McGraw-Hill; 2001. 2001.

Anexos

1. MATRIZ DE CONSISTENCIA

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGÍA	POBLACIÓN Y MUESTRA
<p>Problema general</p> <p>¿Cómo es el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de Tocosh al 25%, 50%, 75%, 100% a las 24, 48 y 72 horas y el Metronidazol frente a <i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277?</p>	<p>Objetivo general</p> <p>Analizar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de Tocosh al 25%, 50%, 75%, 100% a las 24, 48 y 72 horas y el Metronidazol frente a <i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277.</p> <p>Objetivos específicos</p> <p>Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de Tocosh al 25% a las 24, 48 y 72 horas frente a <i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277.</p> <p>Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de Tocosh al 50% a las 24, 48 y 72 horas frente a <i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277.</p> <p>Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de Tocosh al 75% a las 24, 48 y 72 horas frente a <i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277.</p> <p>Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de Tocosh al 100% a las 24, 48 y 72 horas frente a <i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277.</p> <p>Determinar el efecto antibacteriano del Metronidazol a las 24, 48 y 72 horas frente a <i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277.</p>	<p>Hipótesis general</p> <p>Hi: El extracto etanólico de Tocosh presentará efecto antibacteriano al 25%, 50%, 75%, 100% a las 24, 48 y 72 horas y el Metronidazol frente a <i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277.</p> <p>Ho: El extracto etanólico de Tocosh presentará efecto antibacteriano al 25%, 50%, 75%, 100% a las 24, 48 y 72 horas y el Metronidazol frente a <i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277.</p>	<p>Variable Independiente:</p> <p>Extracto etanólico de Tocosh</p> <p>Indicadores:</p> <p>Porcentaje de Tocosh en solución</p> <p>Variable Dependiente:</p> <p>Efecto antibacteriano contra <i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277</p> <p>Indicadores:</p> <p>Diámetro de halo inhibición</p>	<p>Método:</p> <p>Científico</p> <p>Enfoque:</p> <p>Cuantitativo</p> <p>Tipo:</p> <p>Aplicada</p> <p>Alcance o nivel:</p> <p>Explicativo</p> <p>Diseño:</p> <p>Experimental, transversal.</p>	<p>Población</p> <p>La población fue placas petri con cepas de <i>Porphyromonas gingivalis</i>.</p> <p>Muestra:</p> <p>Conformada por 9 ensayos, por cada grupo.</p> <p>Técnicas:</p> <p>Observación.</p> <p>Instrumentos:</p> <p>Ficha de registro de datos.</p> <p>Técnica de análisis de datos:</p> <p>Para la evaluación estadística, se calcularon medias y desviaciones estándar, y se verificó la normalidad con la prueba de Shapiro-Wilk. La homogeneidad de varianzas se evaluó con la prueba de Wilcoxon, y las diferencias entre grupos se analizaron mediante la prueba U de Mann Whitney.</p>

2. Operacionalización de variables

VARIABLE	DIMENSIÓN	INDICADOR	CATEGORÍA O VALOR	TIPO	ESCALA
Extracto etanólico de Tocosh	Concentración	Porcentaje de Tocosh en solución	Porcentaje (%)	Categórica	Ordinal
Efecto antibacteriano contra Porphyromonas gingivalis	Eficacia antibacteriana	Diámetro de halo de inhibición	Milímetros (mm)	Categórica	Ordinal
Control (Variable de comparación)	Control de eficacia	Eficacia del Metronidazol por diámetro de halo de inhibición	Milímetros (mm)	Cualitativo	Ordinal

3. Documento de aprobación por el comité de ética



Huancayo, 23 de diciembre del 2024

OFICIO N°1021-2024-CIEI-UC

Investigadores:

PAOLA KELLY ESPINAL VELIZ
NAVELI YEIMI REZA GONZALES

Presente-

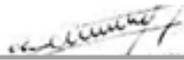
Tengo el agrado de dirigirme a ustedes para saludarles cordialmente y a la vez manifestarles que el estudio de investigación titulado: **EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE TOCOSH Y EL METRONIDAZOL FRENTE A PORPHYROMONAS GINGIVALIS ATCC 33277.**

Ha sido **APROBADO** por el Comité Institucional de Ética en Investigación, bajo las siguientes precisiones:

- El Comité puede en cualquier momento de la ejecución del estudio solicitar información y confirmar el cumplimiento de las normas éticas.
- El Comité puede solicitar el informe final para revisión final.

Aprovechamos la oportunidad para renovar los sentimientos de nuestra consideración y estima personal.

Atentamente,




Walter Calderón Gerstein
Presidente del Comité de Ética
Universidad Continental

C.c. Archivo.

Arequipa
Av. Losinosi S/N,
José Luis Bustamante y Rivero
(054) 412 030

Calle Alfonso Ugarte 607, Yanahuara
(054) 412 030

Huancayo
Av. San Carlos 1080
(094) 481 430

Cusco
Urb. Manuel Prado - lote B, N° 7 Av. Colcauyo
(084) 480 070

Sector Angostura KM. 10,
carretera San Jerónimo - Saylla
(084) 480 070

Lima
Av. Alfredo Mendola 520, Los Olivos
(01) 283 2700

Jr. Junín 355, Miraflores
(01) 283 2700

4. Permiso institucional



CONSTANCIA

Que la señorita Nayeli Yeimi Reza Gonzales, con DNI 74446298, y la señorita Paola Kelly Espinal Veliz, con DNI 76785732, proporcionaron una muestra botánica para ser identificada taxonómicamente por el laboratorio SCIENTIFIC QUALITY S.A.C., manifestando que es parte de la investigación de su tesis titulada: "Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de tocosh y el metronidazol frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277". La muestra proporcionada resulto ser:



División: *Magnoliophyta*

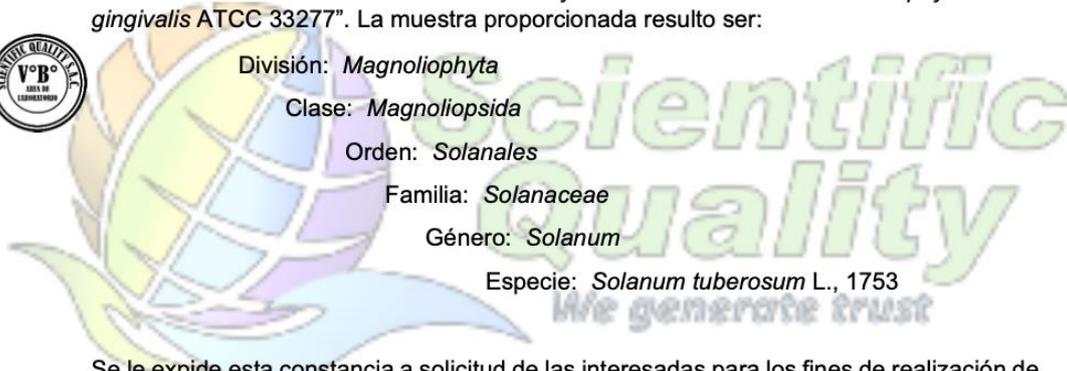
Clase: *Magnoliopsida*

Orden: *Solanales*

Familia: *Solanaceae*

Género: *Solanum*

Especie: *Solanum tuberosum* L., 1753



Se le expide esta constancia a solicitud de las interesadas para los fines de realización de su tesis.

Lima, 17 de julio del 2024



Mbigo. Oniel Elías Juárez Vilcapuma
Jefe de Laboratorio
C.B.P. 14090

CONSTANCIA

La empresa SCIENTIFIC QUALITY S.A.C. hace constar que se ha eliminado adecuadamente los residuos biológicos del trabajo de Tesis “Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de tocosh y el metronidazol frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277”, como indica nuestro Instructivo de Tratamiento de material contaminado del Laboratorio de microbiología I03-P02-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, 17 de diciembre del 2024



Mblgo. Oniel Elías Juárez Vilcapuma
Jefe de Laboratorio
C.B.P. 14090

INFORME DE ENSAYO Nº SQ241210.01

SOLICITUD DE ENSAYO : SQE 241122.01
SOLICITANTE : NAYELI YEIMI REZA GONZALES - PAOLA KELLY ESPINAL VELIZ
DIRECCIÓN DEL SOLICITANTE : No indica
PROCEDENCIA DE LA MUESTRA : Proporcionado por el laboratorio Scientific Quality S.A.C.
IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA : M1: Extracto etanólico de tocosh al 100%
M2: Extracto etanólico de tocosh al 75%
M3: Extracto etanólico de tocosh al 50%
M4: Extracto etanólico de tocosh al 25%
M5: Metronidazol
CANTIDAD Y DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA : M1: Un (01) gotero ámbar de 10mL
M2: Un (01) gotero ámbar de 10mL
M3: Un (01) gotero ámbar de 10mL
M4: Un (01) gotero ámbar de 10mL
M5: Un (01) frasco de 20mL
LUGAR, FECHA Y HORA DE MUESTREO : No aplica
FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN : 22 de noviembre del 2024/ 9:30h
CONDICIONES A LA RECEPCIÓN : Temperatura de refrigeración
FECHAS DE INICIO DEL ANÁLISIS : 22 de noviembre del 2024
FECHAS DE TÉRMINO DEL ANÁLISIS : 07 de diciembre del 2024
FECHAS DE EMISIÓN : 10 de diciembre del 2024

RESULTADOS DE ENSAYO MICROBIOLÓGICO: ANTIBIOGRAMA

N° Replica en placa Petri	Halo de inhibición de las sustancias de prueba frente a <i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277 en milímetros (mm) a las 24 horas en agar sangre				
	M1: Extracto etanólico de tocosh al 100%	M2: Extracto etanólico de tocosh al 75%	M3: Extracto etanólico de tocosh al 50%	M4: Extracto etanólico de tocosh al 25%	M5: Metronidazol
1	17,51	12,39	0,00	0,00	24,11
2	18,25	12,23	0,00	0,00	24,35
3	18,40	12,60	0,00	0,00	24,22
4	18,45	12,31	0,00	0,00	23,31
5	17,34	13,62	0,00	0,00	23,59
6	19,15	12,57	0,00	0,00	23,06
7	17,71	13,40	0,00	0,00	22,59
8	16,56	12,15	0,00	0,00	21,31
9	17,28	12,36	0,00	0,00	22,81
10	16,75	12,12	0,00	0,00	22,35
11	15,64	12,41	0,00	0,00	21,52
12	17,53	12,29	0,00	0,00	23,01
13	17,98	12,44	0,00	0,00	24,15
14	17,19	12,52	0,00	0,00	24,45
15	17,95	13,06	0,00	0,00	22,75

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 reproducción parcial o total del presente informe, sin la autorización escrita por SCIENTIFIC QUALITY S.A.C. la adulteración o uso indebido del presente informe constituye un delito contra la fe pública y se regula por las disposiciones penales y civiles en la materia.



INFORME DE ENSAYO N° SQ241210.01

16	19,05	12,28	0,00	0,00	23,84
17	17,22	12,75	0,00	0,00	22,51
18	18,71	12,88	0,00	0,00	24,10
19	18,33	12,03	0,00	0,00	23,95
20	17,85	12,17	0,00	0,00	23,95
21	17,95	11,92	0,00	0,00	24,07
22	17,32	12,43	0,00	0,00	22,86
23	18,25	11,56	0,00	0,00	22,92
24	17,95	11,81	0,00	0,00	22,47
25	17,17	12,94	0,00	0,00	24,32
26	16,86	12,05	0,00	0,00	23,56
27	19,16	12,10	0,00	0,00	23,44
28	17,01	12,85	0,00	0,00	21,07
29	17,63	13,23	0,00	0,00	21,89
30	18,48	12,41	0,00	0,00	22,2
31	14,32	11,23	0,00	0,00	22,08
32	14,48	11,94	0,00	0,00	21,95
33	14,94	14,07	0,00	0,00	22,12
34	14,16	12,37	0,00	0,00	26,86
35	14,31	12,95	0,00	0,00	26,23
36	14,87	12,86	0,00	0,00	26,02



N° Replica en placa Petri	Halo de inhibición de las sustancias de prueba frente a Porphyromonas gingivalis ATCC 33277 en milímetros (mm) a las 48 horas en agar sangre				
	M1: Extracto etanólico de tocosh al 100%	M2: Extracto etanólico de tocosh al 75%	M3: Extracto etanólico de tocosh al 50%	M4: Extracto etanólico de tocosh al 25%	M5: Metronidazol
1	17,29	12,26	0,00	0,00	23,90
2	18,12	12,10	0,00	0,00	24,12
3	18,21	12,46	0,00	0,00	23,99
4	18,30	12,15	0,00	0,00	23,10
5	17,15	13,54	0,00	0,00	23,34
6	18,92	12,38	0,00	0,00	22,89
7	17,58	13,26	0,00	0,00	22,41
8	16,39	12,08	0,00	0,00	21,12
9	17,14	12,11	0,00	0,00	22,65
10	16,54	11,95	0,00	0,00	22,23
11	15,43	12,18	0,00	0,00	21,40

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 reproducción parcial o total del presente informe, sin la autorización escrita por SCIENTIFIC QUALITY S.A.C., la adulteración o uso indebido del presente informe constituye un delito contra la fe pública y se regula por las disposiciones penales y civiles en la materia.

INFORME DE ENSAYO N° SQ241210.01

12	17,4	12,12	0,00	0,00	22,82
13	17,85	12,21	0,00	0,00	24,01
14	16,99	12,31	0,00	0,00	24,22
15	17,72	12,89	0,00	0,00	22,52
16	18,87	12,15	0,00	0,00	23,61
17	17,07	12,56	0,00	0,00	22,36
18	18,52	12,69	0,00	0,00	23,95
19	18,14	11,85	0,00	0,00	23,74
20	17,63	12,02	0,00	0,00	23,81
21	17,68	11,7	0,00	0,00	23,85
22	17,18	12,19	0,00	0,00	22,67
23	18,05	11,35	0,00	0,00	22,75
24	17,81	11,64	0,00	0,00	22,2
25	16,99	12,71	0,00	0,00	24,14
26	16,65	11,88	0,00	0,00	23,32
27	18,95	11,91	0,00	0,00	23,28
28	16,81	12,62	0,00	0,00	20,89
29	17,45	13,05	0,00	0,00	21,68
30	18,27	12,15	0,00	0,00	22,03
31	14,16	11,03	0,00	0,00	21,85
32	14,31	11,71	0,00	0,00	21,72
33	14,71	13,85	0,00	0,00	21,97
34	13,95	12,16	0,00	0,00	26,65
35	14,14	12,82	0,00	0,00	26,04
36	14,66	12,65	0,00	0,00	25,87



N° Replica en placa Petri	Halo de inhibición de las sustancias de prueba frente a <i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277 en milímetros (mm) a las 72 horas en agar sangre				
	M1: Extracto etanólico de tocosh al 100%	M2: Extracto etanólico de tocosh al 75%	M3: Extracto etanólico de tocosh al 50%	M4: Extracto etanólico de tocosh al 25%	M5: Metronidazol
1	17,12	12,14	0,00	0,00	23,77
2	17,91	11,91	0,00	0,00	24,01
3	17,96	12,23	0,00	0,00	23,77
4	18,14	11,94	0,00	0,00	22,85
5	16,96	13,33	0,00	0,00	23,12
6	18,64	12,15	0,00	0,00	22,48

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 reproducción parcial o total del presente informe, sin la autorización escrita por SCIENTIFIC QUALITY S.A.C. La adulteración o uso indebido del presente informe constituye un delito contra la fe pública y se regula por las disposiciones penales y civiles en la materia.

INFORME DE ENSAYO Nº SQ241210.01

7	17,45	13,15	0,00	0,00	22,23
8	16,25	11,93	0,00	0,00	20,89
9	16,97	11,95	0,00	0,00	22,41
10	16,35	11,84	0,00	0,00	22,02
11	15,34	12,00	0,00	0,00	21,18
12	17,25	11,96	0,00	0,00	22,64
13	17,72	11,92	0,00	0,00	23,87
14	16,83	12,10	0,00	0,00	24,04
15	17,55	12,56	0,00	0,00	22,3
16	18,66	11,90	0,00	0,00	23,39
17	16,90	12,24	0,00	0,00	22,12
18	18,36	12,44	0,00	0,00	23,74
19	17,93	11,73	0,00	0,00	23,52
20	17,49	11,81	0,00	0,00	23,58
21	17,53	11,52	0,00	0,00	23,61
22	17,00	12,05	0,00	0,00	22,52
23	17,88	11,16	0,00	0,00	22,58
24	17,59	11,51	0,00	0,00	21,98
25	16,84	12,58	0,00	0,00	23,96
26	16,42	11,63	0,00	0,00	23,09
27	18,72	11,66	0,00	0,00	23,11
28	16,62	12,45	0,00	0,00	20,76
29	17,24	12,82	0,00	0,00	21,47
30	18,14	11,99	0,00	0,00	21,8
31	14,04	10,86	0,00	0,00	21,63
32	14,17	11,55	0,00	0,00	21,51
33	14,52	13,63	0,00	0,00	21,78
34	13,71	11,99	0,00	0,00	26,47
35	13,99	12,59	0,00	0,00	25,86
36	14,45	12,42	0,00	0,00	25,68



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 reproducción parcial o total del presente informe, sin la autorización escrita por SCIENTIFIC QUALITY S.A.C, la adulteración o uso indebido del presente informe constituye un delito contra la fe pública y se regula por las disposiciones penales y civiles en la materia.

R08-P03-GL. Ver. 01

Página 4 de 5

INFORME DE ENSAYO Nº SQ241210.01

MÉTODOS DE ENSAYO	
ENSAYOS	REFERENCIA
ANTIBIOGRAMA	SQ-100. TÉCNICA DE DIFUSIÓN EN AGAR EN PLACAS. ⁽¹⁾

OBSERVACIONES:

No aplica.

(1) 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.



Mblgo. Oniel Elías Juárez Vilcapuma
Jefe de Laboratorio
C.B.P.14090

**Scientific
Quality**
We generate trust

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 reproducción parcial o total del presente informe, sin la autorización escrita por SCIENTIFIC QUALITY S.A.C., la adulteración o uso indebido del presente informe constituye un delito contra la fe pública y se regula por las disposiciones penales y civiles en la materia.



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.
Confrontare 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 ⁸
1.0	3.0 x 10 ⁸
2.0	6.0 x 10 ⁸
3.0	9.0 x 10 ⁸
4.0	12.0 x 10 ⁸

BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAPHY

1. Mc Farland, 1907. J.Am.Med.Assoc.49:1176.
2. Patricia M. Tille. 2014. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology, 13th 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

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

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY
Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net

Rev.3 / 10.01.2014



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p>SPECIFICATIONS: Product Name: Porphyromonas gingivalis Catalog Number: 0912 Lot Number: 912-77** Reference Number: ATCC® 33277™* Passage from Reference: 2 Expiration Date: 2025/07/31</p>	<p>RELEASE INFORMATION: Quality Control Technologist: Jacob A Lohman Release Date: 2023/09/11</p>
--	--

Performance	
<p>Macroscopic Features: Small, circular, transparent colonies that become brown with age.</p> <p>Microscopic Features: Gram negative rod, pleomorphic bacillary to coccoid forms.</p>	<p>Medium: A/R SBAP</p> <p>Method: Gram Stain (1)</p>
<p>ID System: MALDI-TOF (1)</p> <p>See attached ID System results document.</p>	
 Amanda Kuperus Director of Quality Control AUTHORIZED SIGNATURE	
<p>**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.</p> <p>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</p> <p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p> <p>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;">  ACCREDITED TESTING CERT #2655.01 </div> <div style="text-align: center;">  ATCC Licensed Derivative </div> <div style="text-align: center;">  ACCREDITED REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2655.02 </div> </div> <p>(*) 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.</p>	

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 highconfidence 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: 2023-09-11T10:30:36.127 JAL

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

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
H12 (+++) (A)	912-77	Porphyromonas gingivalis	2.19

Comments:

N/A

5. Instrumentos de recolección de datos

Tratamiento		Extracto etanólico de Tocosh al 25%		Extracto etanólico de Tocosh al 50%		Extracto etanólico de Tocosh al 75%		Extracto etanólico de Tocosh al 100%		Grupo control Metronidazol						
Nº	Repetición	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h
1	R1															
	R2															
	R3															
	R4															
	R5															
2	R1															
	R2															
	R3															
	R4															
	R5															
3	R1															
	R2															
	R3															
	R4															
	R5															
4	R1															
	R2															
	R3															
	R4															
	R5															
5	R1															
	R2															
	R3															
	R4															
	R5															
6	R1															
	R2															

6. Fotos

1. MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS



Agar Sangre



Medio Tioglicolato fluido



Estándar de turbidez de 0,5 de Mc Farland

2. CEPA MICROBIANA E INSUMOS PARA ANTIBIOGRAMA

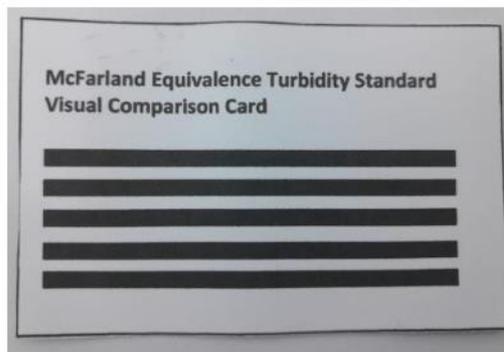
Cepa de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277
Liofilizada



CEPA DE *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277
EN MEDIO TIOGLICOLATO FLUIDO



Tarjeta de comparación visual para el estándar de turbidez McFarland



**Extracto etanólico de Tocosh
al 100 %**



**Extracto etanólico de Tocosh
al 75%**



**Extracto etanólico de Tocosh
al 50%**



**Extracto etanólico de Tocosh
al 25%**





Metronidazol



Alcohol de 70%

3. PREPARACIÓN DE LAS SUSTANCIAS DE PRUEBA

PAPA (*Solanum tuberosum*)



FERMENTACIÓN CON SALMUERA AL 3% PARA PREPARAR TOCOSH



Tocosh



Secado de Tocosh en estufa microbiológica



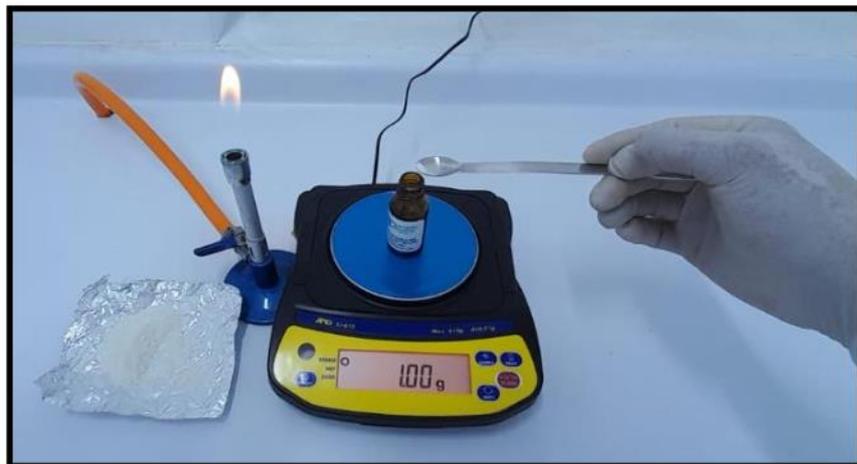
Molido de tocosh deshidratado



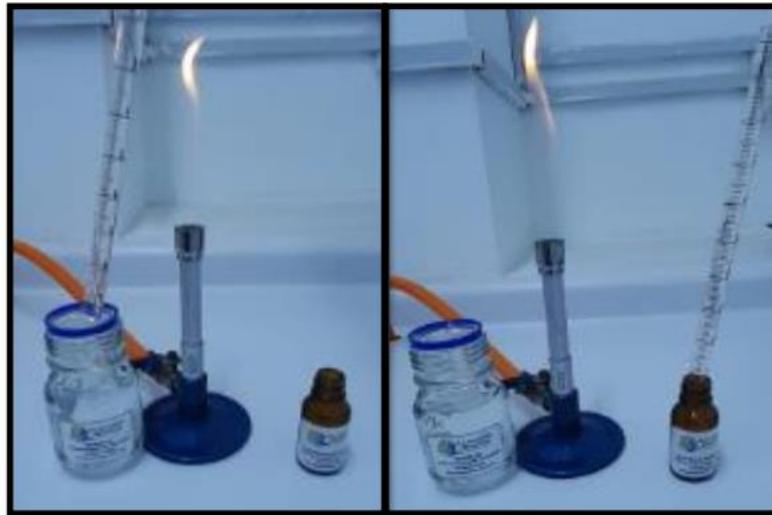
Tocosh molido



Pesado de tocosh deshidratado molido para preparar concentraciones al 100% (100mg/mL), 75% (75mg/mL), 50% (50mg/mL), 25% (25mg/mL) en esterilidad frente al mechero Bunsen



Colocación de Alcohol al 70% en cada frasco ámbar para las concentraciones de extracto etanólico de tocosh en esterilidad frente al mechero Bunsen

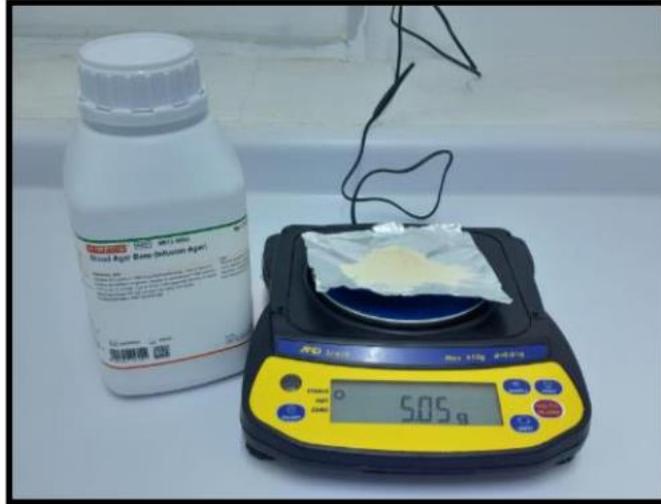


Diluciones del extracto etanólico de Tocosh en frascos ámbar



4. PREPARACION DEL AGAR SANGRE:

Pesaje del agar sangre en balanza digital



Luego el frasco de agar Sangre se esteriliza por autoclave y se estabiliza la temperatura en el baño termostático antes de su traslado en placas Petri.



4.1 Combinación de agar Sangre con Sangre desfibrinada y Vitamina K1, en esterilidad, luego, se vierte el agar Sangre enriquecido en las placas Petri estériles con mechero de bunsen encendido

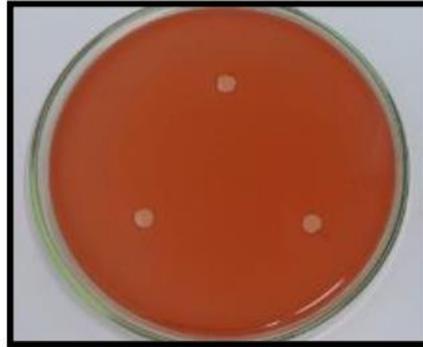


VITAMINA K1

5. Preparación suspensión al 0,5 McFarland, a partir de cultivo en agar de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. Comparación con el estándar comercial Sulfato de Bario 0,5 de McFarland.



6. Realización de pocillos antibiograma

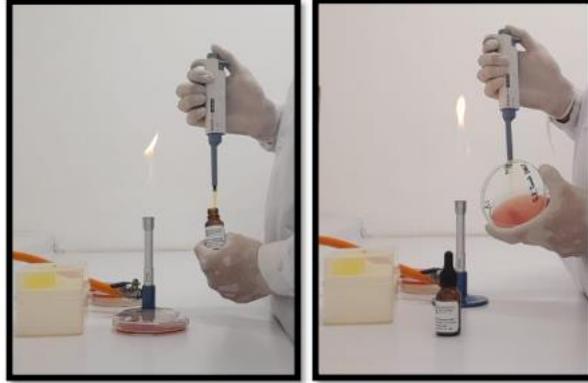


7. Inoculación con hisopo estéril de la cepa *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 a las placas de agar Sangre

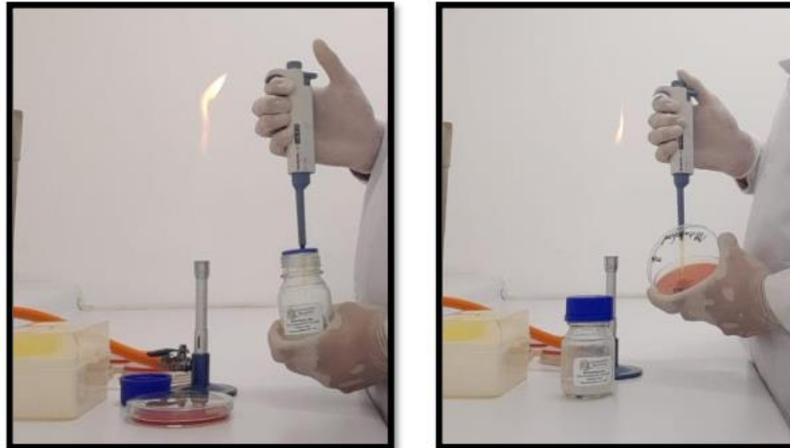


8. Procedimiento de inoculación de 20 μ L de las sustancias de prueba, en esterilidad, frente al mechero de Bunsen con micropipeta

Inoculación a los pocillos antibiograma en agar Sangre con Extracto etanólico de tocosh al 100%



Inoculación a los pocillos antibiograma en agar Sangre con Metronidazol



9. Colocación de las placas Petri con agar sangre conteniendo las sustancias de prueba inoculadas con *Porphyromonas gingivalis* en Jarra de anaerobiosis



10.1 Incubadora Microbiológica con el material de ensayo



10. RESULTADOS

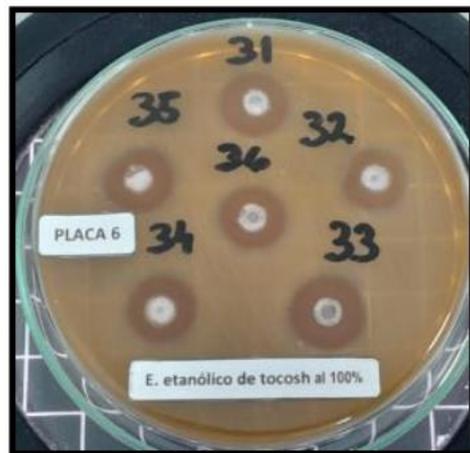
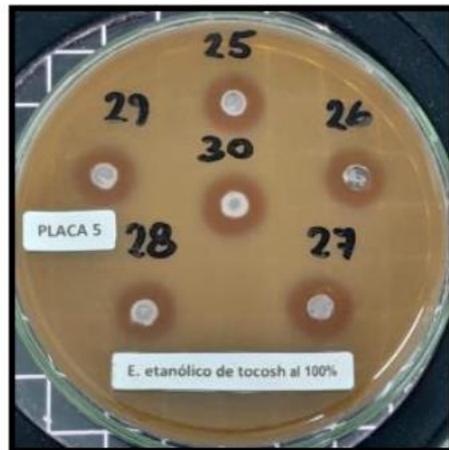
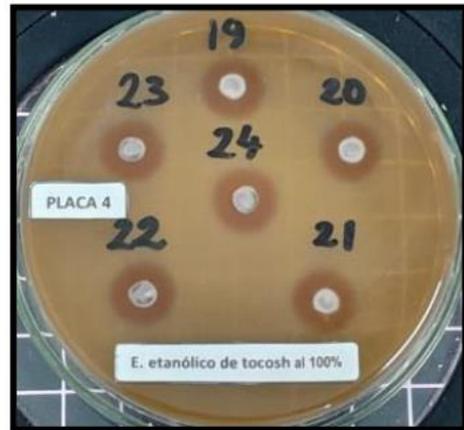
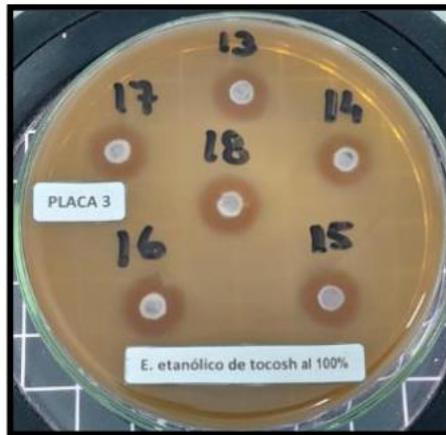
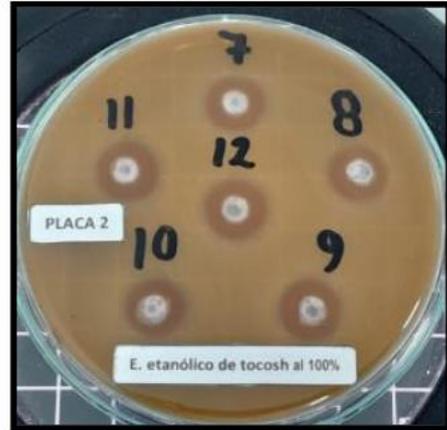
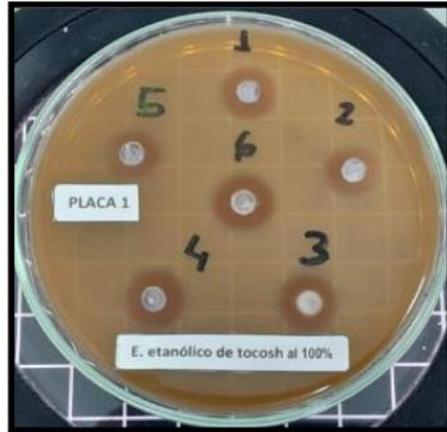
Después del tiempo de incubación, las placas Petri se sacan del equipo y se miden con una regla Vernier digital y una lupa de 4 aumentos de un contador de colonias microbiológico de fondo oscuro que dará contraste para observar detalladamente los halos de inhibición de las concentraciones de los extractos etanólicos de Tocosh frente a *Porphyromonas gingivalis*.



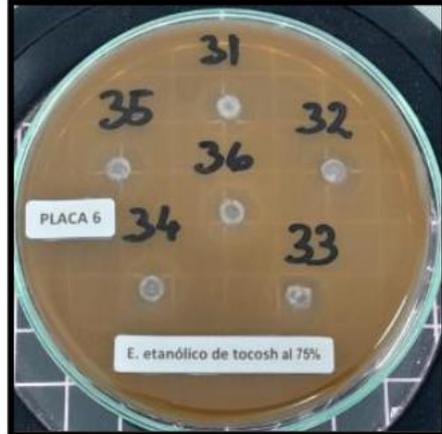
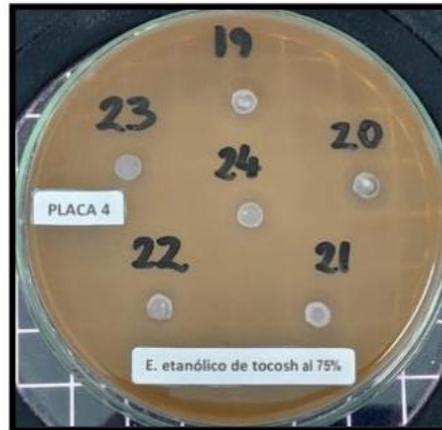
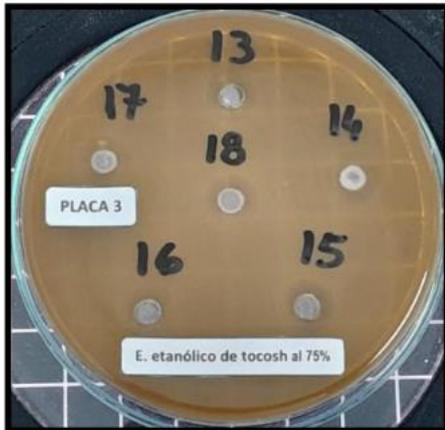
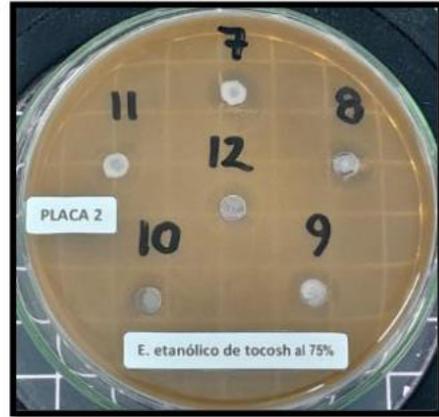
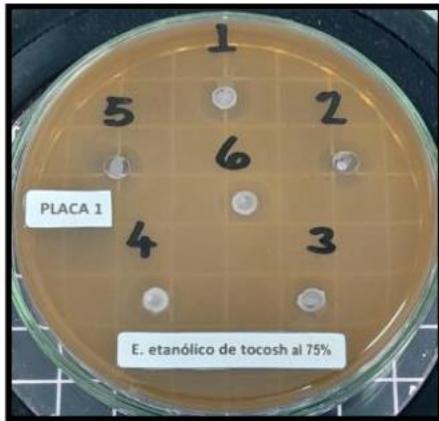
REGLA VERNIER DIGITAL CALIBRADA



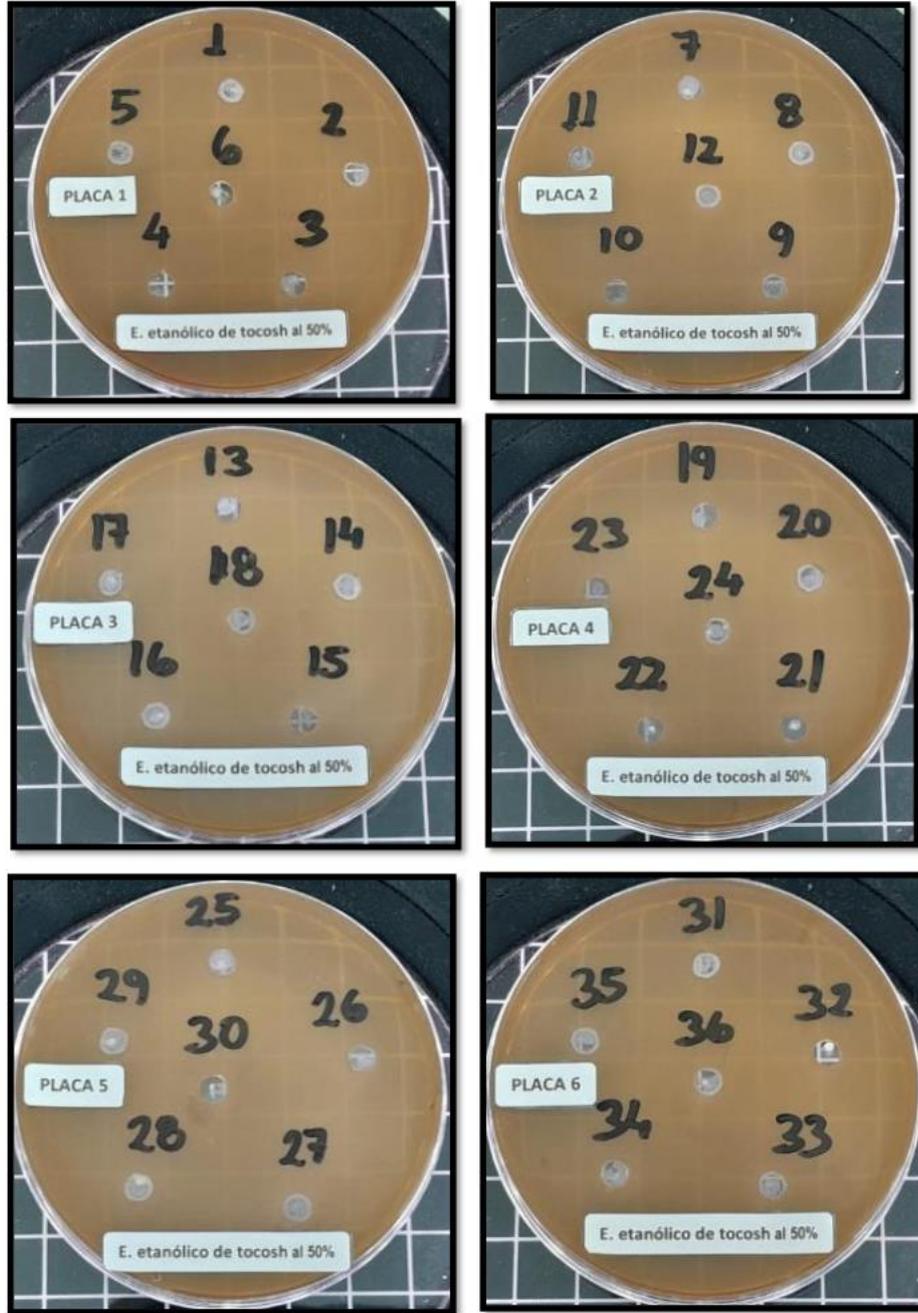
Fotos de placa Petri con extracto etanólico de Tocosh al 100% en agar Sangre frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 a las 72 horas de estudio



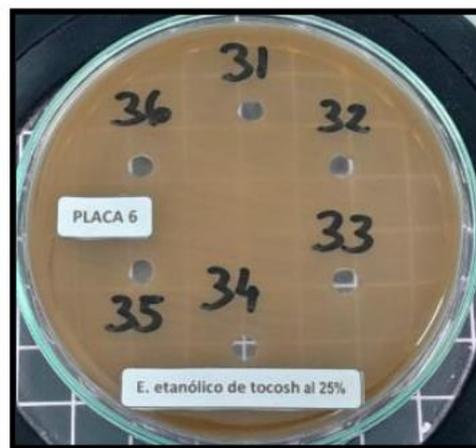
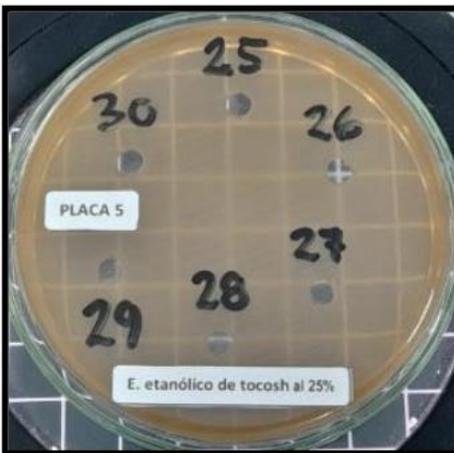
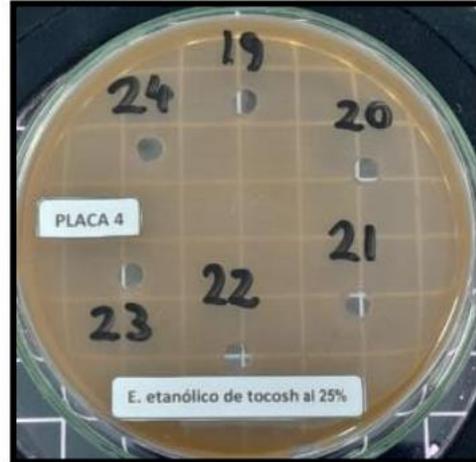
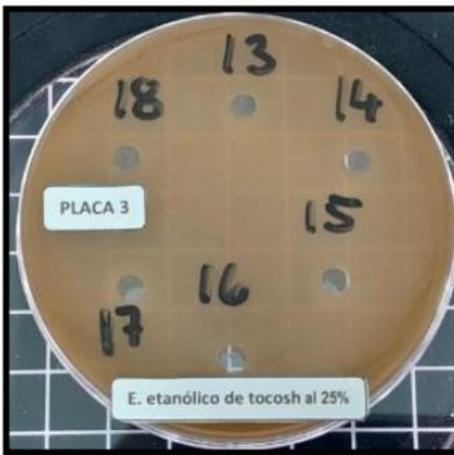
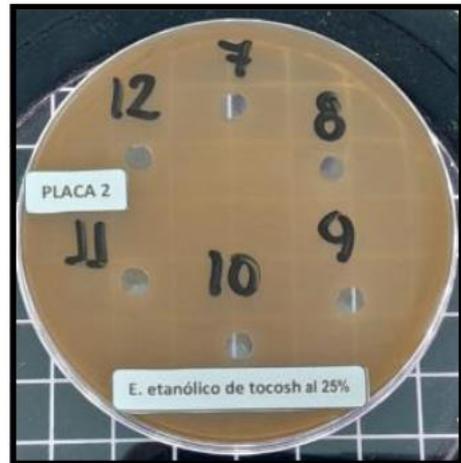
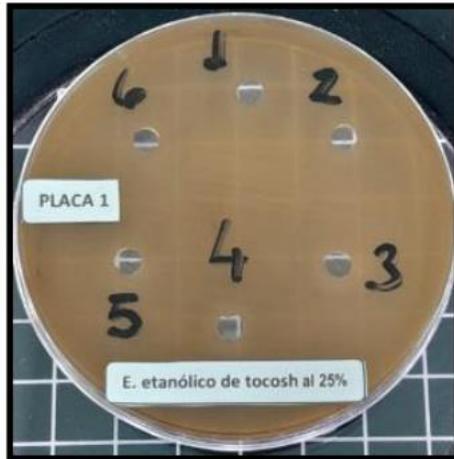
Fotos de placa Petri con extracto etanólico de Tocosh al 75% en agar Sangre frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 a las 72 horas de estudio



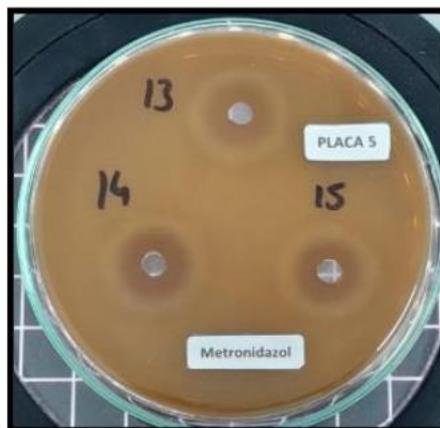
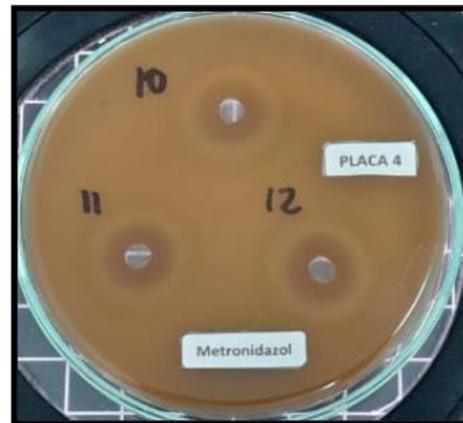
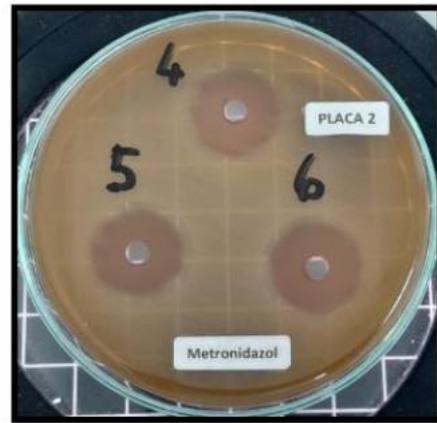
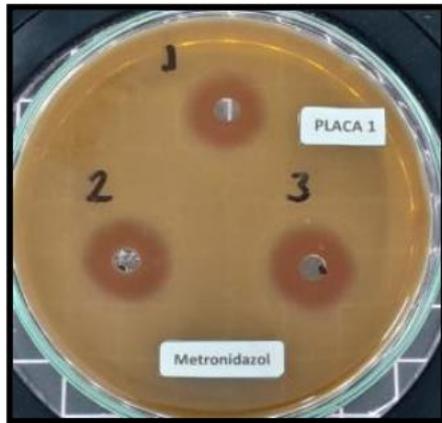
Fotos de placa Petri con extracto etanólico de Tocosh al 50% en agar Sangre frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 a las 72 horas de estudio



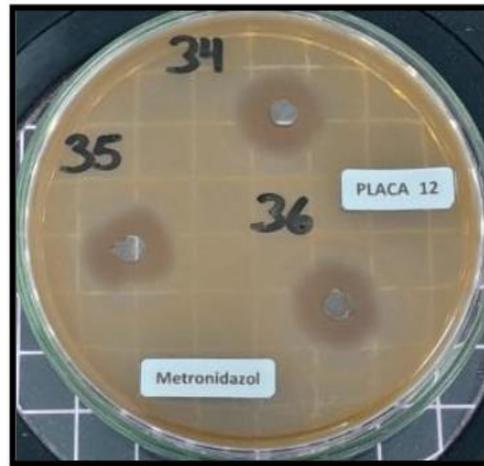
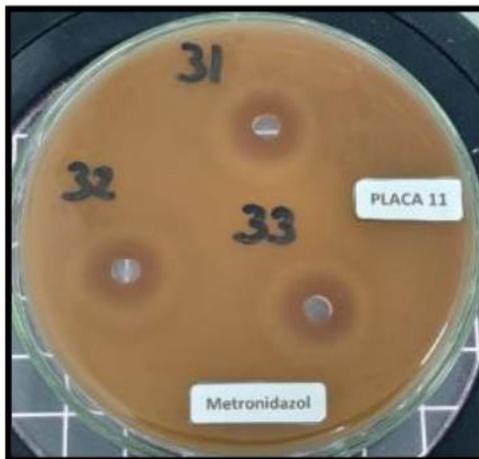
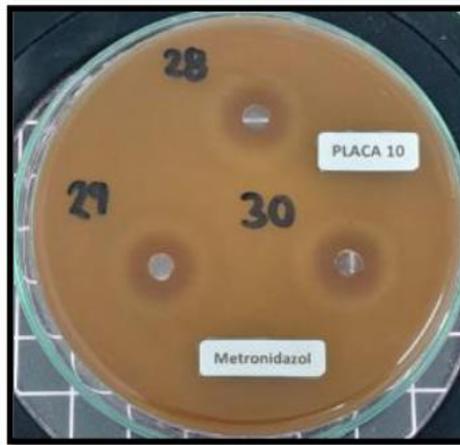
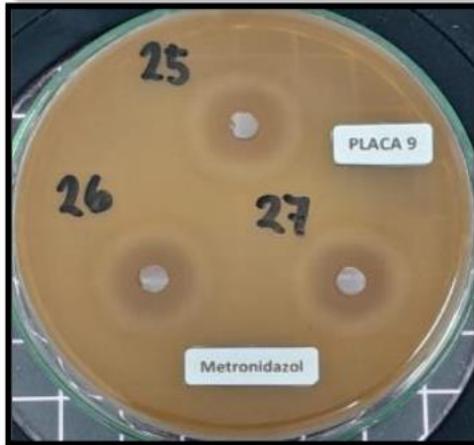
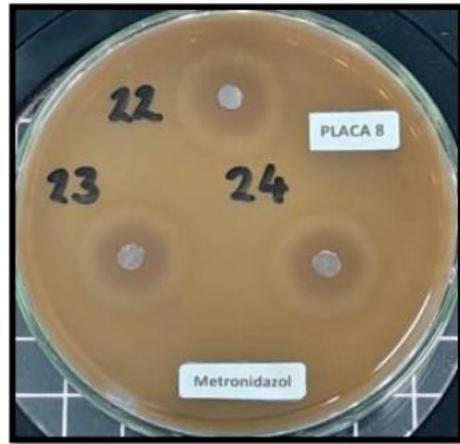
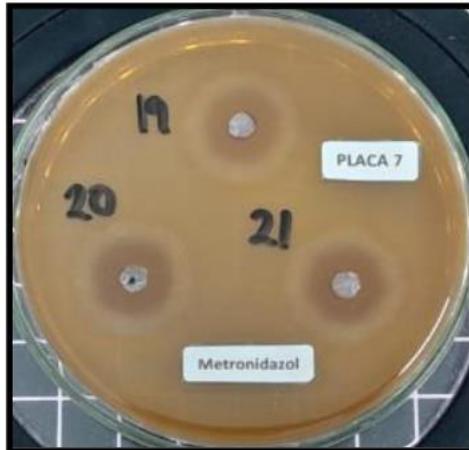
Fotos de placa Petri con extracto etanólico de Tocosh al 25% en agar Sangre frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 a las 72 horas de estudio



Fotos de placa Petri con Metronidazol en agar Sangre frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 a las 72 horas de estudio



Fotos de placa Petri con Metronidazol en agar Sangre frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 a las 72 horas de estudio



11. ELIMINACIÓN DE LOS RESIDUOS BIOLÓGICOS DEL ENSAYO.

Las placas Petri y otros residuos biológicos se colocaron en bolsas rojas y se esterilizaron por autoclave según procedimiento.



Introduciendo Bolsa roja de residuos biológicos a la autoclave



AUTOCLAVE



7. Otros

Tabla N°1

Confiabilidad del instrumento

Resumen de procesamiento de casos			
		n	%
Casos	Válido	30	100,0
	Excluido ^a	0	0,0
	Total	30	100,0

Estadísticas de fiabilidad	
Alfa de Cronbach	N de elementos
0,758	6

En la tabla observamos la ficha con un valor de la confiabilidad de la prueba de alfa de Cronbach fue 0,758, por lo que se concluye que la consistencia interna del instrumento utilizado es buena.

Escala de Alfa de Cronbach

-1 a 0 No es confiable

0.01 – 0.49 Baja confiabilidad

0.50 – 0.69 Moderada confiabilidad

0.70 – 0.89 Fuerte confiabilidad

0.90 – 1.00 Alta confiabilidad

Fuente: Alfa de Cronbach

Oviedo y Campo-Arias (2005) se refieren a la escala del Alfa de Cronbach y el significado de cada escala, determinando que un valor del Alfa de Cronbach, entre 0.70 y 0.90 indica una alta confiabilidad interna para una escala; así mismo, los valores cercanos a 1 implican que el instrumento utilizado es de alta confiabilidad y si se aproxima a 0 significa que el instrumento es de baja confiabilidad.