



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE
ESTOMATOLOGÍA

TESIS

EFFECTO ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DEL EXTRACTO
HIDROETANÓLICO DE *Azadirachta indica* (NEEM) SOBRE
Enterococcus faecalis ATCC 29212

PARA OPTAR TÍTULO PROFESIONAL DE
CIRUJANO DENTISTA

Autor:

Bach. Manayalle Nole Cinthia Elizabeth

<https://orcid.org/0000-0002-1131-5468>

Asesor:

Dr. Pérez Delgado Orlando

<https://orcid.org/0000-0002-5849-1047>

Línea de Investigación:

Ciencias de la vida y cuidado de la salud humana

Pimentel – Perú

2021

**TITULO: EFECTO ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DEL EXTRACTO
HIDROETANÓLICO DE *Azadirachta indica* (NEEM) SOBRE *Enterococcus
faecalis* ATCC 29212**

JURADO CALIFICADOR

Dr. Pérez delgado Orlando
ASESOR ESPECIALISTA

MSC. Ana María Guerrero Millones
ASESORA METODOLOGICA

Dr. Pérez Delgado Orlando
PRESIDENTE

Mg. CD. Portocarrero Mondragón Juan Pablo
SECRETARIO

MSc. Ana María Guerrero Millones
VOCAL

DEDICATORIA

A mis padres, quienes incondicionalmente me dieron su apoyo.

A mi familia, quienes son el centro de mi vida y me alientan para seguir adelante.

AGRADECIMIENTO

A Dios por darme la oportunidad y bendición de poder estar donde estoy ahora.

A todos los docentes de la Escuela de estomatología de la Universidad Señor de Sipán, que con sus aportes y sugerencias permitieron que culminara con éxito este informe de tesis.

Al Dr. Mblgo. Miguel Angel Ruiz Barreto que con sus aportes como especialista permitió la correcta ejecución de la presente investigación.

RESUMEN

El objetivo fue determinar *in vitro* la capacidad antibacteriana del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Metodológicamente fue una investigación de tipo cuantitativo de diseño experimental verdadero. Las concentraciones evaluadas fueron 800 µg/mL, 900 µg/mL y 1000 µg/mL. Como controles se utilizaron clorhexidina 2% y solución salina fisiológica. El método de disco difusión fue el utilizado para establecer la capacidad antibacteriana del neem. Los resultados se expresaron como diámetro promedio de los halos de inhibición de cada concentración del extracto evaluado. A la concentración de 800 µg/mL el halo formado fue de 17,8 mm, a los 900 µg/mL un halo de 19,4 mm y a los 1000 µg/mL un halo de 21,7 mm. Esta concentración fue la que mostró superior efectividad antibacteriana. Dichos efectos fueron comparados con los 15,5 mm del halo formado por el control clorhexidina 2%. Concluyeron que las tres concentraciones evaluadas del extracto de *Azadirachta indica* (neem) presenta actividad antibacteriana contra *E. faecalis* ATCC 29212. Existe diferencia significativa ($p < 0,05$) con el control positivo clorhexidina 2%.

Palabras Clave: *Azadirachta indica*, neem, *Enterococcus faecalis*, antibacteriano, *in vitro*.

ABSTRACT

The objective was to determine in vitro the antibacterial capacity of the hydro-tanolic extract of *Azadirachta indica* (neem) on *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Methodologically it was a quantitative type investigation of true experimental design. The concentrations evaluated were 800 µg / mL, 900 µg / mL and 1000 µg / mL. As controls, 2% chlorhexidine and physiological saline were used. The method of disco diffusion was used to establish the antibacterial capacity of neem. The results were expressed as the average diameter of the inhibition halos of each concentration of the extract evaluated. At the concentration of 800 µg / mL the halo formed was 17.8 mm, at 900 µg / mL a halo of 19.4 mm and at 1000 µg / mL a halo of 21.7 mm. This concentration was the one that showed superior antibacterial effectiveness. These effects were compared with 15.5 mm of the halo formed by the 2% chlorhexidine control. They concluded that the three evaluated concentrations of the extract of *Azadirachta indica* (neem) show antibacterial activity against *E. faecalis* ATCC 29212. There is a difference ($p < 0.05$) with the positive control chlorhexidine 2%.

Keywords: *Azadirachta indica*, neem, *Enterococcus faecalis*, antibacterial, *in vitro*.

ÍNDICE

JURADO CALIFICADOR	ii
DEDICATORIA	iii
GRADECIMIENTO	iv
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
ÍNDICE	vii
I. INTRODUCCIÓN	- 10 -
1.1. Realidad Problemática.....	- 10 -
1.2. Trabajos previos.	- 12 -
1.3. Teorías relacionadas al tema	- 18 -
1.4. Formulación del Problema.	- 41 -
1.5. Justificación e importancia del estudio.....	- 41 -
1.6. Hipótesis.	- 42 -
1.7. Objetivos.	- 43 -
II. MÉTODO	- 43 -
2.1. Tipo y Diseño de Investigación.	- 43 -
2.2. Población y muestra.....	- 44 -
2.3. Variables, Operacionalización.	46
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.....	47
2.5. Procedimientos de Análisis de datos.	49
2.6. Criterios éticos.	50
2.7. Criterios de Rigor Científicos.	50
III. RESULTADOS	52

3.1. Tablas y Figuras.....	52
3.2. Discusión de resultados.....	56
3.3. Aporte práctico.....	59
IV. CONCLUSIONES.....	60
4.1. Conclusiones.....	60
4.2. Recomendaciones.....	60
REFERENCIAS.....	62
ANEXOS	74
Anexo 1 Matriz de consistencia.....	74
Anexo 2 Identificación taxonomica de la planta azadirachta indica (NEEM).....	75
Anexo 3 Solicitud de acceso a laboratorio para prueba piloto.....	76
Anexo 4 Procedimientos de recolección de datos.....	77
Anexo 5 Ficha de recolección de datos.....	82
Anexo 6 Resultados de prueba.....	83
Anexo 7 Analisis estadístico de datos.....	84
Anexo 8 Grafico de medias.....	86

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1** : Diámetro de halo de inhibición promedio del efecto antibacteriano in vitro de tres concentraciones del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.....52
- Figura 2**: Diámetro de halo de inhibición promedio del efecto antibacteriano in vitro de la concentración de 800 µg/mL del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212..... 53
- Figura 3**: Diámetro de halo de inhibición promedio del efecto antibacteriano in vitro de la concentración de 900 µg/mL del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.....54
- Figura 4**: Diámetro de halo de inhibición promedio del efecto antibacteriano in vitro de la concentración de 1000 µg/mL del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212..... 55

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Realidad Problemática.

Los microorganismos inducen una variedad de infecciones y enfermedades en el cuerpo humano y son en gran parte omnipresentes en la naturaleza de la contaminación, lo que directa o indirectamente conduce a la transmisión de agentes infecciosos.¹

A nivel internacional

Mittal en su artículo (India, 2021) Refiere que *E. faecalis* es un coco grampositivo y facultativo anaerobio que puede sobrevivir a pH extremos (9,6), concentración de sal y a una temperatura de 60 °C por el tiempo de 30 min. Desempeña un papel en la formación de lesiones perirradiculares después del tratamiento endodóntico. A pesar de todo el proceso de desinfección, lo que llamamos este patógeno persistente puede sobrevivir en las raíces.²

Según lo que dice Singaravelu S. en su artículo (Camerún, 2019) Se refiere al hecho de que la resistencia a los antibióticos se ha convertido en una preocupación mundial, y encontrar alternativas más nuevas y seguras a los medicamentos existentes es la primera opción, porque la recuperación de ciertos tipos de infecciones es completamente perjudicial para las bacterias.³

Según Joy Sinha en su artículo (Estados Unidos, 2017) Describe que, debido a una gran cantidad de bacterias, resulta imposible trabajar en un ambiente estéril, por las complicaciones que estas demandan en el trabajo clínico. Los procedimientos de control de infecciones son esenciales para la odontología moderna y tienen un impacto en los resultados clínicos.⁴

Cuando habla Anand S en su investigación (Malasia, 2016) sobre los procedimientos de endodoncia dice que son uno de los tratamientos más comunes realizados en el quirófano dental.⁵ Entonces de todos los patógenos endodónticos, *E. faecalis* se encuentra comúnmente en las infecciones primarias y persistentes del conducto radicular.⁶ Es una bacteria anaerobia facultativa Gram-positiva, que es resistente a varios procedimientos de desinfección.⁷

Además, Hugar S. (India, 2017) Nos dice en su artículo científico que la cavidad oral humana tiene variedad de microorganismos, comensales como también patógenos, aquellos microorganismos patógenos son los que ocasionan las infecciones. Debido a la variedad y gran cantidad de bacterias resulta inviable trabajar en un entorno estéril. Los procedimientos de control de infecciones son muy importantes para la odontología de ahora y tienen gran impacto en los resultados clínicos.¹

A nivel nacional

Según Arevalo Hajar (Lima, 2018) Hace referencia que en la cavidad oral humana existe una amplia variedad de microorganismos, tanto comensales como organismos patógenos, y estos microorganismos patógenos son los que causan las infecciones. Debido a la compleja anatomía del conducto radicular o la resistencia de determinadas familias bacterianas a los antibióticos, algunos tratamientos de endodoncia suelen fracasar, entre ellos *Enterococcus faecalis* es la bacteria más resistente reportada.⁸

Cano W. (Piura, 2017) Demostró la capacidad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de *Azadirachta indica* (neem) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. También se ha observado su uso en nuestro país como repelente natural ahuyentando a los insectos y a la mosca de las frutas, también a la roya amarilla del café cuando es cultivado alrededor de estas plantaciones.⁹

El uso de las plantas medicinales en la odontología se ha dado debido a que los componentes de algunas plantas no interfieren con las propiedades físicas del diente y los microorganismos son incapaces de desarrollar resistencia contra las sustancias utilizadas.

Ortiz F. (Trujillo, 2021) Señaló que *E. faecalis* se ha identificado como una causa común de infección periapical persistente. Es el tipo más común de bacteria en los dientes que se han sometido a un tratamiento de conducto y representa más del 90%. Puede sobrevivir al equipo químico mecánico del conducto radicular, colonizando así los túbulos de dentina con una profundidad de 300 micrones, y tiene una gran capacidad para sobrevivir y crecer en un microambiente que puede ser tóxico para las bacterias.¹⁰

A nivel local

Por ello, Arriola R. (Chiclayo ,2018) En su investigación mencionó que *E. faecalis* se define como una bacteria que parasita el tracto gastrointestinal de todas las personas y puede colonizar la cavidad bucal. Se relaciona con un gran número de lesiones de la mucosa oral en pacientes inmunodeprimidos, como periodontitis e infección del conducto radicular. Mencionó que existen 8 reportes de pulpectomía, de los cuales el 75% de los casos fueron exitosos, y el otro 25% fracasan, indicando que el 50% de los casos exitosos como fallidos tienen *E. faecalis*. La infección endodóntica secundaria persistente puede ser el resultado del fracaso endodóntico.

1.2. Trabajos previos.

A nivel internacional

Mittal A, et al.² (India; 2021). En su artículo tuvo como objetivo evaluar la actividad antibacteriana de los geles de hidróxido de calcio, *Azadirachta indica* (Neem), *Ocimum tenuiflorum* (Tulsi) y *Punica granatum* (Granada) como medicamentos intracanales contra *Enterococcus faecalis*. Entonces se introdujeron los geles experimentales en las muestras, se sellaron por ambos extremos. La actividad antimicrobiana de los medicamentos se evaluó midiendo UFC / ml al final de 1, 3 y 5 días. El trabajo dio como resultado que el hidróxido de calcio mostró la máxima actividad antibacteriana (5.3×10^4 UFC / ml) posteriormente el gel de granada ($5,4 \times 10^4$ UFC / ml) sin tener diferencia estadísticamente significativa entre ellos. De igual manera, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores medios de UFC / ml del neem ($10,2 \times 10^4$ UFC / ml) y tulsi gel ($10,2 \times 10^4$ UFC / ml). No obstante, el gel de granada mostró actividad antibacteriana estadísticamente significativa en comparación con Neem y Tulsi. Conclusión: El hidróxido de calcio mostró la mejor actividad antibacteriana frente a *E. faecalis*. Entre los geles de hierbas, la granada mostró la máxima actividad antibacteriana, pero, se requiere más investigación in vivo para que se aplique clínicamente como único medicamento intracanal.

Singaravelu S, et al.³ (India; 2019). En su artículo científico tuvo como objetivo analizar la acción antibacteriana del extracto de corteza de *A. indica* sobre diferentes patógenos bacterianos. El extracto de corteza de *A. indica* se preparó utilizando el método de extracción Soxhlet. El extracto de corteza de *A. indica* se analizó para determinar la actividad antibacteriana mediante una técnica de ensayo de difusión en agar agar contra *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus mirabilis*. Se utilizó ciprofloxacina (5 µg por disco) como control positivo. Todos los ensayos se realizaron bajo estrictas precauciones asépticas. Todas las concentraciones incluidas fueron duplicadas, y los resultados obtenidos fueron el promedio de dos experimentos independientes. Se utilizó el método de microdilución en caldo para estudiar la concentración inhibitoria mínima del extracto de corteza de *A. indica*. El extracto de corteza de *A. indica* ha mostrado actividad antibacteriana contra todas las concentraciones del extracto de corteza, mientras que la actividad antibacteriana contra *S. aureus* se observó a una concentración mayor de > 500 µg / mL. El extracto de corteza de *A. indica* mostró una zona de eliminación contra *E. faecalis*, *P. aeruginosa* y *P. mirabilis* en todas las concentraciones. La zona de inhibición se observó en concentraciones más altas contra *S. aureus*. Este estudio ha demostrado que el extracto de corteza de *A. indica* tiene una potente propiedad antibacteriana contra *S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa* y *P. mirabilis*. Un mayor aislamiento de los compuestos bioactivos puede conducir a un nuevo alcance en el tratamiento de infecciones bacterianas.

Hugar S, et al.¹ (India; 2017). En su artículo científico tuvo como objetivo evaluar comparativamente la eficacia de la capacidad de desinfección del aceite de ajo, el aceite de neem, el aceite de clavo y el aceite de tulsi con autoclave en los archivos de endodoncia K probados contra *Enterococcus faecalis*. Se realizó en 50 reportes clínicos de endodoncia K al microorganismo de prueba, verificándose la capacidad de desinfección a través de tres métodos: el aceite de clavo, ajo, y tulsi. En la autoclave mostraron una eficacia considerable contra *E. faecalis*, excepto el aceite

de neem. Se encontró que los tres aceites son desinfectantes efectivos y pueden usarse como una alternativa a los microorganismos de prueba esterilizados en autoclave. Los extractos de hierbas son un método natural e inofensivo para controlar las infecciones, estos productos están disponibles y son comparables al estándar de oro, por lo que pueden usarse en las zonas rurales de la India.

Joy Sinha D, et al.⁴ (Estados Unidos; 2017). En su artículo científico tuvieron como objetivo comparar la capacidad antibacteriana de *Curcuma longa* (cúrcuma) y *Azadirachta indica* (neem) con hipoclorito de sodio al 5% o clorhexidina al 2% como irrigantes del canal radicular in vitro contra *Enterococcus faecalis*. Se utilizó el método de difusión en disco. La CMI y la CMB se calcularon con el método de dilución en tubo. El extracto de neem y la clorhexidina presentaron mayor efecto antibacteriano cuando se utilizaron como irrigantes endodónticos contra *E. faecalis*. No hubo diferencia estadística significativa entre el efecto de *A. indica*, Gluconato de clorhexidina e hipoclorito de sodio. La CMI del neem fue semejante al de la clorhexidina 1:128. La CMB fue de 1:16. El efecto antibacteriano del Neem fue semejante al 2% de clorhexidina e hipoclorito de sodio frente *E. faecalis*.

Anand S, et al.⁵ (Malasia; 2016). En su artículo científico Compararon la efectividad antibacteriana de *Azadirachta indica* (Neem), *Commiphora myrrha* (Mirra), *Glycyrrhiza glabra* (Regaliz) con 2% de clorhexidina sobre *E. faecalis* utilizando el PCR en tiempo real. Cincuenta estructuras dentarias fueron inoculadas con *E. faecalis* por veintiún días. Se trabajaron con cinco grupos experimentales. Los fármacos intracanales fueron empacados al interior de la dentadura. Posterior a cinco días con ayuda del PCR se logró determinar la carga microbiana. Se encontró que los halos de inhibición de cada uno de los extractos estudiados y del control negativo fueron 30.94; 21.38; 23.85; 17.8; y 30.93 respectivamente. El producto proveniente de *C. myrrha* inhibió a *E. faecalis* de manera similar a la de la clorhexidina al 2% seguida de Neem, regaliz y SSFE.

Mustafa M, et al⁶ (Reino de Arabia Saudita; 2016). En su trabajo de investigación evaluaron la eficacia antimicrobiana del extracto de neem (*Azadirachta indica*) contra *E. faecalis*. Se utilizó extracto de hoja de neem, clorhexidina al 2% e hipoclorito de sodio al 3% para evaluar la eficacia antibacteriana. La prueba de difusión de poros en agar se utilizó para estudiar la eficacia antibacteriana de la solución salina como control. La zona de inhibición se analizó a través del programa estadístico IBM versión 20 mediante el análisis de prueba de varianza. Los tres fármacos mostraron áreas de inhibición claras y comparables alrededor de sus respectivos poros. Todos los valores son significativamente más altos que los del grupo de control. Según la clorhexidina, extracto de hoja de neem e hipoclorito de sodio 3%, se encontró diferencias significativas en el diámetro del área del *E. faecalis*, llegando a la conclusión que el extracto de hoja de neem presenta una zona bacteriostática equivalente a la de la clorhexidina y el hipoclorito de sodio.

A nivel nacional

Arévalo-Híjar, et al.⁸ (Lima, Perú; 2018). En su artículo tuvieron como objetivo evaluar el efecto de citotoxicidad y antibacteriano in vitro de dos tipos de extractos metanólicos de *Moringa oleifera* y *Azadirachta indica* contra *Enterococcus faecalis*. Se utilizó el método de discodifusión para evaluar el efecto antibacteriano de los extractos frente a *E. faecalis*. Los resultados mostraron que el mejor efecto antibacteriano fue del extracto *M. oleifera* ya que formó halos de inhibición de 35.5 a 44.83 mm, después de una a dos días de incubación. La CMI fue de 75 µg/mL. La CMB para *A. indica* fue de 25 µg/mL y *M. oleifera* fue de 75 µg/mL. Concluyeron que los extractos metanólicos de *M. oleifera* y *A.* mostraron actividad antibacteriana contra *E. faecalis* durante el período de confrontación de 1 día y 2 días. No se observó citotoxicidad en el extracto evaluado.

Cano W, et al⁹ (Piura, Peru;2018) en su trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto del extracto etanólico de *Azadirachta* (NEEM) sobre la viabilidad in vitro de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Se utilizaron dos métodos de evaluación, el método de dispersión y el método

de microdilución en caldo. La lectura de los resultados del método de difusión por disco se expresa en milímetros midiendo el diámetro del halo suprimido. El efecto inhibitor más alto se encontró a una concentración de 9000 µg / mL. El experimento encontró que el extracto etanólico de NEEM tenía un efecto inhibitor sobre *S. mutans* ATCC 25175, pero las estadísticas mostraron que, en comparación con el control positivo, $p < 0.05$ no fue significativo. Se especula que el efecto inhibitor del extracto observado en el experimento puede deberse a la presencia de compuestos fenólicos en las hojas de las plantas, cuyo efecto antibacteriano ha sido apoyado en estudios previos. La conclusión es que el extracto alcohólico de neem (NEEM) tiene un efecto inhibitor in vitro sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, pero en comparación con el control positivo de gluconato de clorhexidina al 0,12%, el efecto inhibitor no es estadísticamente significativo.

Martinez V, et al¹². (Trujillo, 2021) en su trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano y antifúngico in vitro del extracto etanólico de *Nasturtium officinale* sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212TM y *Cándida albicans* ATCC 10231TM. Los resultados mostraron que los valores medios de inhibición del crecimiento de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212TM fueron 22,17 mm (20%), 23,08 mm (40%), 26,33 mm (60%), 28,58 mm (80%), 28,92 mm (100 %).) Y clorhexidina son 23 mm. El halo medio de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* ATCC 10231TM es de 10 mm (20%), 10,17 mm (40%), 10,33 mm (60%), 10,42 mm (80%), 13,92 mm (100%) y Mycin es de 19 mm . Concluyendo que el extracto etanólico de *Nasturtium officinale* tiene efectos antibacterianos y antifúngico sin vitro sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212TM y *Cándida albicans* ATCC 10231.

A nivel local

Con lo que respecta en el ámbito local y habiéndose previamente investigado información referente a esta temática, no se pudo lograr obtener ningún resultado.

1.3. Teorías relacionadas al tema

1.3.1. Efecto antibacteriano

Se refiere a al efecto que a menor concentración tiene efecto bacteriostático (inhibición de crecimiento), y a mayor concentración tiene efecto bactericida (lisis bacteriana).

1.3.1.1 Gold Estándar en el control de *Enterococcus faecalis*

El Instituto Nacional de Salud (INS) proporciona dos grupos de antibióticos utilizados en el control de *Enterococcus* spp. Grupo I: Ampicilina, gentamicina, estreptomina y vancomicina. Grupo II: Teicoplanina, rifampicina, cloramfenicol, tetraciclina, eritromicina en el caso de *Enterococcus* causantes de infecciones urinarias se recomienda nitrofurantoina, norfloxacina, ciprofloxacina y levofloxacina.³² En el caso de *Enterococcus faecalis* causante de fracaso del tratamiento endodóntico se utiliza el Gold Estándar Gluconato de Clorhexidina al 2% como irrigante de los conductos radiculares contaminados. Clorhexidina Gluconato 2% solución tópica acuosa transparente, Es un tipo de antiséptico que puede cambiar la permeabilidad de la membrana plasmática celular para que tenga un fuerte efecto antibacteriano. Es adecuado para un rango de pH de 5 a 8. Tiene un efecto bactericida rápido y eficaz sobre bacterias Gram positivas y algunas bacterias Gram negativas, pero no tiene actividad contra bacterias resistentes a los ácidos, esporas y virus.¹³

1.3.1.2 Microorganismos orales

Como muchas otras ciencias biológicas, el estudio de la microbiología ha pasado por fases de "reduccionismo" y "holismo". Durante mucho tiempo, los microbiólogos adoptaron el enfoque reduccionista para estudiar comunidades microbianas complejas mediante el análisis de especies bacterianas individuales. La estrategia consistía en comprender el conjunto mediante el examen de componentes más pequeños, y ha sido el sello distintivo de gran parte de las revoluciones industriales y científicas durante los últimos 150 años. Si bien el reduccionismo ha avanzado mucho en microbiología, ¿se

reconoció que el ensamblaje de piezas más pequeñas no puede explicar el todo! Los microbiólogos modernos están aprendiendo el "pensamiento sistémico" y el "holismo". Desde la regulación genética global hasta la "metagenómica" y las "biopelículas", la microbiología está entrando en una nueva era emocionante con énfasis en revelar y decodificar las interacciones de diferentes elementos dentro de una comunidad microbiana.¹⁴

Comúnmente conocida como "placa dental", las comunidades microbianas orales son una de las floras bacterianas más complejas asociadas con el cuerpo humano. Hasta ahora, se han identificado más de 700 especies bacterianas diferentes de la cavidad oral humana, y la mayoría de ellas están asociadas con la placa dental. Extensos estudios clínicos y en animales han indicado que la flora microbiana oral es responsable de dos enfermedades orales humanas importantes: caries dental (caries dental) y periodontitis (enfermedad de las encías). Durante mucho tiempo, los microbiólogos orales siguieron las pautas de los postulados de Koch y utilizaron el enfoque reduccionista para tratar de identificar los patógenos claves responsables de la patogénesis microbiana oral. Sin embargo, la limitación del reduccionismo obligó a los microbiólogos a adoptar nuevos conceptos como la interacción entre especies, la comunidad microbiana, las biopelículas, las enfermedades polimicrobianas, etc. Estas nuevas direcciones de investigación han revelado muchas funciones fisiológicas nuevas críticas para la patogénesis, que resultan de las interacciones entre diferentes componentes. dentro de la flora microbiana oral, y podría no observarse con organismos individuales. El nuevo "sistema de pensamiento", potenciado con las técnicas modernas para analizar la comunidad microbiana compleja, sirve como una nueva base para el estudio de la comunidad microbiana oral, brindando una valiosa información sobre la etiología de las enfermedades dentales y periodontales, desarrollando nuevas herramientas terapéuticas y preventivas para combatir la polinfecciones microbianas.¹⁴

Aunque diminutas y primordiales, las bacterias son increíblemente versátiles y diversificadas. A juzgar por su número y biomasa, son posiblemente los organismos vivos más exitosos en la tierra. Pueden tolerar los extremos ambientales y colonizar casi todos los hábitats de la tierra, incluida la cavidad oral humana. Sin embargo, debido a su minuciosidad, su existencia no se reveló hasta tiempos bastante recientes, alrededor de 1680, cuando Antony van Leeuwenhoek, un comerciante holandés de productos secos, observó y describió los primeros microorganismos en el sarro de los dientes con su microscopio primitivo. En su cuaderno, escribió: "No me lavé los dientes durante tres días y luego tomé el material que se había alojado en pequeñas cantidades en las encías sobre mis dientes frontales. Encontré unos pocos animales vivos". El cuaderno ahora se conoce como algunas de las bacterias más abundantes que residen dentro de la cavidad oral, incluidos los cocos, las espiroquetas y las bacterias fusiformes. Estas observaciones fascinantes en el nacimiento de la microbiología ya habían señalado la complejidad de la comunidad microbiana oral.¹⁵

Uno de los primeros logros en microbiología oral es vincular las placas dentales con las enfermedades dentales y periodontales. Como se mencionó anteriormente, la placa dental fue una de las primeras sustancias que Antony van Leeuwenhoek examinó bajo su microscopio. Su registro de los microorganismos vivos dentro de la placa dio la primera pista sobre la naturaleza compleja de la placa dental en términos de sus habitantes microbianos diversificados. Más tarde, tanto Erdi como Ficinus describieron la presencia de microorganismos dentro de la "membrana" en los dientes). Sin embargo, las implicaciones completas de la placa dental no se dieron cuenta hasta la publicación del artículo de Black de 1898, en el que se refirió a la placa dental como "placas microbianas gelatinosas", una sustancia similar a la gelatina que transportaba microorganismos. Basado en su experiencia clínica y experimentación, creía que la causa de la caries dental se debía al ataque de los ácidos generados

por bacterias dentro de estas placas. El trabajo de Black, junto con la teoría quimioparasitaria de Miller, estableció el importante papel de la placa dental en la etiología de la caries dental y se ha convertido en uno de los paradigmas esenciales de la biología oral. Y el progreso en el estudio de la placa dental se ha convertido en un indicador importante del desarrollo de la microbiología oral.¹⁶

Desde el establecimiento de microbios dentro de la placa dental como causa de enfermedades dentales y periodontales, los microbiólogos orales siguieron las pautas de los postulados de Koch y trataron de aislar microorganismos específicos que podrían ser los agentes causantes y responsables de estas enfermedades. Sin embargo, como en otros campos de la microbiología, uno de los desafíos que enfrentaron los primeros investigadores en microbiología oral fue el aislamiento y el cultivo de cultivos bacterianos "puros". En la década de 1960, las bacterias anaerobias habían sido reconocidas como el componente microbiano predominante del tracto gastrointestinal (incluida la cavidad oral) de la flora de humanos y mamíferos. Durante el proceso de cultivo bacteriano, los investigadores se dieron cuenta de que la mayoría de estas bacterias anaerobias no se pueden cultivar aeróbicamente, o con la técnica de cultivo anaeróbico convencional, como el tubo de cultivo anaeróbico introducido por Laidlaw, la jarra de vacío diseñada por Noguchi, y el contenedor anaeróbico: la "bomba McIntosh" desarrollada por McIntosh y Fildes. La introducción de las cajas de guantes anaeróbicos: una versión primitiva de la cámara anaeróbica ahora ampliamente utilizada, por Socransky y Rosebury et al en la década de 1960 facilitó enormemente el aislamiento y el cultivo de anaerobios, en particular los microorganismos anaerobios obligados (estrictos), de la cavidad oral humana¹⁷

Con una técnica de cultivo anaeróbico mejorada y la disponibilidad de medios complejos recientemente desarrollados para el cultivo bacteriano, los cultivos puros de más de 300 especies diferentes de bacterias orales se han aislado de la cavidad oral en los últimos 40 años, incluidas las especies bacterianas albergadas tanto en la

supragingival como en los subgrupos. Muestras de placa dental gingival tomadas de sitios sanos y enfermos. El aislamiento y el cultivo permitieron un estudio genético y fenotípico detallado de aquellas bacterias clínicamente importantes, como *Streptococcus*, *Actinobacillus*, *Actinomyces*, *Porphyromonas* y *Treponema*.¹⁶

La combinación de enfoques genéticos clásicos, como el aislamiento y la caracterización de mutantes, con técnicas de genética molecular, incluida la metodología de ADN recombinante desarrollada a fines de la década de 1970 y el mapeo genético, se ha utilizado para manipular genéticamente y caracterizar esos microorganismos importantes en la caries dental. y enfermedades periodontales. Los estudios genéticos, junto con la información bioinformática adicional obtenida de secuencias genómicas completas de muchas bacterias orales permiten a los microbiólogos diseccionar el desarrollo y la función de la comunidad microbiana oral a nivel molecular. Se han realizado progresos en la determinación de la base genética molecular de la formación de biopelículas de aislamientos orales utilizando datos in vitro. estudios sobre sistemas de especies individuales, dobles o multiespecies.¹⁷

Los estudios han demostrado que en ciertos organismos virulentos se requieren muchos tipos diferentes de genes que codifican una variedad de funciones para el desarrollo de biopelículas y el establecimiento exitoso dentro de la placa dental, incluidos los genes que codifican factores de virulencia, vías generales de respuesta al estrés, sistemas de detección de quórum, dos componentes sistemas que detectan señales ambientales, y aquellos que codifican adherencias de superficie involucradas en las interacciones de superficie que codifican célula-célula o de célula a genes.¹⁸

1.3.1.3 *Enterococcus faecalis*

Los enterococos existen como bacterias comensales normales en el tracto gastrointestinal, la cavidad oral y la vagina humanos. Pueden causar muchas enfermedades en el ser humano, infectar el tracto

urinario, sangre, endocardio, abdomen, tracto biliar, quemaduras y cuerpos extraños permanentes. Enterococcus es ahora uno de los tres principales patógenos bacterianos hospitalarios, y las cepas resistentes a los antibióticos actualmente disponibles causan verdaderas dificultades en el tratamiento. Hasta el 90% de las infecciones por Enterococcus humanas son causadas por Enterococcus faecalis. La mayoría de los demás son causados por Enterococcus faecium y las infecciones de otras especies son muy raras. El enterococo también se asocia con la infección de la pulpa dental. Aunque representan solo una pequeña parte de la flora inicial de los dientes necróticos pulpares no tratados, los enterococos, especialmente Enterococcus faecalis, se encuentran a menudo en los conductos radiculares bloqueados que muestran signos de periodontitis periapical crónica, en el 23-70% de los cultivos positivos están aislados. Además, Enterococcus faecalis pertenece a un grupo de bacterias cultivadas a partir de lesiones periapicales que son ineficaces para el tratamiento endodóntico.¹⁹

Los enterococos son el microorganismo predominante en el conducto radicular, que es anaerobio gram positivo y facultativo y el principal responsable de las lesiones perioapicales. Alrededor del 77% de las infecciones endodónticas persistentes son asintomáticas y poseen ciertos factores virulentos como enzimas proteolíticas, citolisina, sustancia de agregación, feromonas y ácido lipoteicoico. Tienen tendencia a adherirse a las paredes del conducto radicular y a formar una biopelícula. Sobreviven a una amplia variedad de condiciones de crecimiento, incluido un rango de temperatura de 10 ° C a 45 ° C, y también viven en entornos hipotónicos, hipertónicos, ácidos o alcalinos. Varios estudios han demostrado que los enterococos son resistentes a diversos procedimientos de tratamiento intracanal. Esto se atribuye a su capacidad de penetrar los túbulos dentinarios, soportar valores altos de pH, poseer factores de virulencia y formar biopelículas. La preparación del canal no elimina por completo la bacteria, pero la aplicación de medicamentos para el canal puede

eliminar los organismos persistentes después de la preparación biomecánica.^{19,20}

La preparación mecánica del canal conduce a la interrupción de la configuración microbiana, mientras que el enjuague antimicrobiano del canal produce una reducción en la carga microbiana. Los derivados herbales son un buen medicamento alternativo que tiene un potente antimicrobiano debido a la amalgamación de alcaloides presentes en estas mezclas. Este estudio destaca la eficacia de un producto a base de hierbas como un medicamento intracanal para superar la citotoxicidad de las células madre polipotentes.^{21,22}

Enterococcus faecalis es una bacteria grampositiva que puede causar una variedad de infecciones nosocomiales, de las cuales las infecciones del tracto urinario son las más comunes. Estas infecciones pueden ser excepcionalmente difíciles de tratar debido a la resistencia a los medicamentos de muchos aislamientos de *E. faecalis*.²³

E. faecalis es el patógeno más común asociado con infecciones endodónticas primarias y secundarias. Hay varios factores que intervienen en la localización de los microbios en el huésped, como el oxígeno, el suministro de nutrientes, la sinergia bacteriana, etc. *E. faecalis* forma una biopelícula, que a su vez ayuda a las bacterias a ser más resistentes a la destrucción microbiana. Los factores que contribuyen a la resistencia incluyen el recubrimiento impenetrable de polisacárido en la bacteria de biopelícula, y estas bacterias de biopelícula sobreviven sin dividirse. Varios factores físicos que favorecen el crecimiento bacteriano, que incluyen el pH, la concentración de iones, la disponibilidad de nutrientes y el suministro de oxígeno, varían a lo largo de la biopelícula.^{24,25}

1.3.1.4 Fracaso del tratamiento endodóntico

La clave para un tratamiento endodóntico exitoso es eliminar completamente el sistema del conducto radicular del tejido pulpar necrótico o infectado y los microorganismos, y sellar completamente

el espacio del conducto radicular. Esto evitará la persistencia de la infección y la reinfección del espacio del conducto radicular.^{26,27}

La falta de localización y tratamiento de todos los conductos radiculares en el sistema de conductos radiculares se considera la principal razón del fracaso del tratamiento del conducto radicular. En la mayoría de los casos, se ha demostrado que el dentista general es el responsable del fracaso del tratamiento endodóntico. Debido a la complejidad del sistema de conductos radiculares, aumenta el riesgo de que falten estructuras anatómicas. Se puede encontrar que todos los dientes tienen raíces / conductos radiculares adicionales, pero la incidencia de esta observación es mayor en premolares y molares.²⁸

El estándar de restauración coronal tiene un efecto sobre el estado periapical de los dientes llenos de raíz. El resultado de un pobre relleno del conducto radicular puede ser favorable, si la calidad de la restauración coronal es buena. Por otro lado, un diente con mala restauración coronal, pero con un sistema de conducto radicular bien limpio, preparado y bien obturado puede fallar en breve. La demanda de retratamiento endodóntico aumenta, porque las observaciones de numerosos estudios transversales mostraron que un mayor porcentaje de dientes llenos de raíz tienen evidencia de periodontitis apical radiográficamente.²⁹

Uno de los factores más influyentes que afecta el pronóstico del tratamiento endodóntico es la condición preoperatoria del diente. Si el diente tiene una lesión radiolúcida periapical preoperatoria, entonces puede tener una tasa de éxito menor de hasta un 20% que el diente sin dicha lesión radiolúcida periapical preoperatoria. Sin embargo, algunos otros estudios mostraron que, si la instrumentación del conducto radicular y el llenado del conducto radicular se han llevado a cabo a un nivel óptimo, entonces el pronóstico del tratamiento endodóntico será el mismo en los dientes que tienen radiolucencias periapicales y en los dientes que no tienen radiolucencias periapical.³⁰

Hay muchas razones para el fracaso del tratamiento del conducto radicular, incluidos instrumentos individuales, gradillas, transporte, perforación, conductos radiculares faltantes o bloqueados. Estos afectarán el efecto final del tratamiento de conducto. Estos errores de procedimiento no son la causa directa del fracaso del tratamiento endodóntico. De hecho, estos errores son obstáculos para una correcta limpieza, modelado y relleno del conducto radicular, lo que dificulta el control de las infecciones de la pulpa dental. Por ejemplo, la presencia de un instrumento separado impide una preparación químico-mecánica adecuada en la longitud de trabajo del conducto radicular, lo que conduce a una enfermedad periapical después del tratamiento endodóntico. Cuando estos errores de procedimiento ocurren durante el tratamiento de dientes infectados, la probabilidad de falla es mayor. La principal razón del fracaso del tratamiento de endodoncia es la presencia de patógenos en el sistema de conductos radiculares tratado incorrectamente o sin tratar.³¹

La calidad de la restauración de la corona también influye positivamente en la salud periapical del diente de tratamiento del conducto radicular. Los conductos radiculares mal rellenos combinados con buenas restauraciones de la corona pueden seguir teniendo éxito durante mucho tiempo; por otro lado, los conductos radiculares bien rellenos con una mala restauración de la corona pueden fallar en un corto período de tiempo. En la mayoría de los casos, incluso en dientes bien tratados, todavía existen microorganismos en la parte apical del conducto radicular, lo que conduce al fracaso del tratamiento endodóntico. Los estudios han demostrado que hay áreas en el conducto radicular que no se pueden limpiar, moldear y rellenar con los instrumentos, materiales y técnicas existentes, por lo que las infecciones no se pueden eliminar. La radiografía puede mostrar un llenado adecuado del conducto radicular, aunque estas áreas inaccesibles pueden contener tejido necrótico y bacterias. De hecho, una radiografía de un diente bien

tratado no significa que el obturador del conducto radicular esté completamente limpio y relleno.³¹

1.3.2. Extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem)

Azadirachta indica es un miembro de la familia de la caoba.⁹ El nombre latinizado de neem es *Azadirachta indica*, *Azad* significa "libre", *dirakht* significa "árbol", y *i-Hind* significa "de origen indio". Por lo que etimológicamente significa "El árbol libre de la India". El uso de esta planta como medicina tiene registros históricos muy antiguos. Su aplicación medicinal incluye su uso contra la viruela y otras enfermedades infecciosas. Hace miles de años, la primera mención acerca de los usos del neem se escribió en Thirumantiram Ennayiram Thirumular, Tholkappium y las antiguas obras tamil de la literatura de Sangam.⁹ El Neem contiene componentes fitoquímicos que ejercen propiedades antivirales, antibacterianas, antimaláricas, antiulcerosas y anticonceptivas.^{32,33} La corteza del neem contiene una sustancia similar al tanino que inhibe el crecimiento bacteriano.⁹

Si bien es cierto *Azadirachta indica* es originaria de la India, se le ha encontrado en África, Asia, Centroamérica y Sudamérica incluido el Perú, principalmente en la costa norte. En el Perú, no se han realizado muchas investigaciones respecto al potencial uso del Neem, por lo que sus diferentes propiedades farmacológicas, así como su uso en el sector industrial aún es desconocida.

Con respecto al extracto Las hojas de *Azadirachta indica* pasan por un proceso de selección, de lavado y posteriormente de desinfección. posteriormente fueron secadas en una estufa, también pueden secarse al ambiente y luego se realizó su molienda. El extracto se preparó utilizando un sistema de extracción Soxhlet de 20 mg de cada muestra en un periodo de 6 horas en aproximadamente 250 ml de hidroetanol y luego se concentró a sequedad a presión reducida utilizando un evaporador rotatorio, y los residuos se almacenaron a 4 °C.

1.3.2.1 Fitoterapia

La fitoterapia es un campo de la medicina que utiliza las plantas para tratar enfermedades o como promotoras de la salud. Generalmente se le llama herboristería en la medicina occidental. El uso tradicional de medicinas a base de hierbas generalmente preserva la composición original y la integridad de la planta de origen, de modo que toda la planta o el porcentaje requerido de los ingredientes adulterados mínimos pueden usarse con fines medicinales. Varias tradiciones médicas utilizan terapias a base de plantas.³⁴

Los médicos y proveedores pueden usar una sola hierba, varias hierbas que se cree que tienen propiedades complementarias o una mezcla con sustancias no vegetales como minerales y vitaminas. Los usos a base de hierbas más tradicionales generalmente incluyen partes de plantas enteras, como la infusión de manzanilla (té), mientras que las medicinas a base de hierbas occidentales usan más comúnmente hierbas individuales estandarizadas como componentes del extracto. Por el contrario, los medicamentos derivados de plantas suelen ser compuestos individuales separados por separación industrial y extracción de ingredientes que se determina que tienen propiedades terapéuticas.³⁵

La fabricación de fitoterapia implica el procesamiento uniforme de materiales derivados de plantas para que el producto final contenga una marca de referencia a una concentración verificada. Debido a que las plantas contienen una variedad de componentes químicos, los componentes de etiquetado del producto final están estandarizados. El propósito de identificar el ingrediente del etiquetado es producir un producto final que contenga la concentración requerida de ingrediente activo, en el tratamiento, lo más importante es administrar el ingrediente activo en una dosis terapéuticamente adecuada.³⁶

1.3.2.2 Plantas medicinales

Las plantas medicinales tienen una larga historia en el tratamiento de diversas enfermedades, incluidas las enfermedades infecciosas, y se

han probado cientos de miles de plantas para determinar sus propiedades medicinales. Sin embargo, quedan por estudiar las actividades fitoquímicas y farmacológicas de más plantas. Las sustancias de origen vegetal son toleradas y aceptadas por los pacientes y parecen ser una fuente confiable de compuestos antimicrobianos.³⁷

Las plantas medicinales se utilizan comúnmente como tratamientos alternativos para enfermedades mentales y físicas en todo el mundo. La mayoría de las sociedades rurales creen que las medicinas a base de hierbas y los métodos tradicionales de atención de la salud son más asequibles y disponibles que las medicinas modernas. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que aproximadamente el 65% de la población mundial usa plantas medicinales para la atención primaria de salud. Además, alrededor del 39% de los fármacos desarrollados desde 1980 se derivan de plantas y sus derivados.³⁷

La medicina tradicional se ha establecido desde hace mucho tiempo en la cultura de la comunidad etíope. En las zonas rurales, esto incluye el uso de hierbas para tratar la inflamación, las heridas y las infecciones. Los registros del siglo XV detallan las prácticas y tratamientos médicos tradicionales obtenidos de historias orales, el primer lote de manuscritos médicos religiosos y farmacopeas tradicionales. La actividad antibacteriana de estas plantas medicinales tradicionales se basa en sus metabolitos secundarios, como alcaloides, terpenos, flavonoides, taninos y glucósidos.³⁷

El Perú se caracteriza por ser uno de los países con mayor biodiversidad del mundo. En una encuesta reciente de una región andina del noreste peruano conocida por su práctica tradicional de la medicina a base de hierbas, se identificaron 33 especies de plantas medicinales y nueve se describieron como agentes anticancerígenos según el uso tradicional. Estas plantas solas o en conjunto se usan para el tratamiento del cáncer de útero, próstata y estómago.³⁷

Este es un ejemplo de la importancia de la biodiversidad peruana y la necesidad de investigación básica y clínica. En este momento es difícil decir si la información sobre el uso de plantas para el tratamiento o prevención contra el cáncer en Perú se ha transmitido tradicionalmente. Confundir esta observación es la falta de evidencia sobre el diagnóstico de cáncer de los registros históricos de la población andina. Aunque es probable que los nativos fueran conscientes de los tumores como un problema de salud, no está claro en cuanto a su conocimiento de los tumores malignos. Por lo tanto, la crudeza de la atención médica en este grupo de población presupone una incapacidad para detectar tumores cancerígenos sobre los benignos.³⁸

Esta observación ha sido descrita por otros autores, lo que sugiere que el "cáncer" no estaba definido, solo se describió como "hinchazones duras", abscesos, callosidades, callos, verrugas, pólipos o tumores. Otra observación que limita el uso de hierbas como tratamientos específicos contra el cáncer en los días andinos históricos es que las enfermedades por cáncer generalmente se observan en poblaciones donde la esperanza de vida es más alta que otras. Sin embargo, se informa que la esperanza de vida en las poblaciones andinas y amazónicas es baja. Sin embargo, hay referencias anecdóticas sobre grupos aborígenes en Perú con un diagnóstico de cáncer que se han curado con plantas medicinales peruanas. Este es el caso de la uña de gato, la planta más conocida de la Amazonía utilizada en las prácticas tradicionales y culturales en América del Sur durante siglos, especialmente en Perú. Esta planta se usa en muchas partes del mundo como remedio natural para el cáncer, pero se requiere una revisión cuidadosa sobre la evidencia científica.³⁹

Otra planta amazónica con un uso pretendido como agente antitumoral, muy popular en Perú en un sentido tradicional y en los tiempos modernos, es *Croton lechleri*. La resina es la parte medicinal utilizada de la planta y es de color rojo oscuro. Por tal razón se le dio

su nombre común. La sangre de dragón proviene de un gran árbol que crece en la región superior del Amazonas desde Colombia, Ecuador y especialmente Perú. En estas regiones, debido a que el español es el idioma principal, se lo conoce más comúnmente por su nombre popular, sangre de grado.⁴⁰

Más recientemente, una planta andina que crece a más de 4000 metros de altitud se ha vuelto popular. Esta planta llamada *Lepidium meyenii* (Maca) se usa y propone como un nutriente, energizante y sustancia con propiedades para mejorar la fertilidad. Aunque no hay ninguna referencia en la medicina herbal tradicional al efecto de la Maca como agente antitumoral, su uso está muy extendido en el Perú moderno y se está expandiendo fuera de América del Sur. Un hallazgo reciente ha implicado a la Maca roja, como un agente que reduce el peso de la próstata en la hiperplasia benigna de próstata inducida por el enantato de testosterona. Encontrar plantas para tratar el cáncer no es una ilusión. Como todos sabemos, más del 60% de los medicamentos contra el cáncer que se utilizan hoy en día provienen de fuentes naturales, incluidas las plantas.⁴¹

En Perú se han descrito varias plantas con propiedades citotóxicas, sin embargo, *Uncaria tomentosa*, *Croton lechleri* y *Lepidium meyenii* son las plantas medicinales más populares de la región amazónica y andina, respectivamente. En tal sentido, presentamos un análisis basado en evidencia de la química, propiedades biológicas y actividades antitumorales para estos tres materiales vegetales. Además, esta revisión discutirá áreas que requieren estudios futuros y las limitaciones inherentes a su uso experimental como agentes anticancerígenos. Aunque se descubrieron a partir del uso histórico y las prácticas medicinales tradicionales, la uña de gato, la maca y la sangre de dragón representan, en términos modernos, tres mezclas botánicas en uso actual como suplementos de la dieta o como comida (maca).⁴¹

1.3.2.3 *Azadirachta indica* (Neem)

Neem es un árbol omnipotente y un regalo sagrado de la naturaleza. Los árboles de neem crecen principalmente en el subcontinente indio. El árbol de neem es un miembro de la familia de caoba de Meliaceae. Hoy en día, se le conoce con el nombre botánico de *Azadirachta indica* (*A. indica*) A. Juss. Antes de que el registro escrito del comienzo de la historia esté disponible, el neem ha sido ampliamente utilizado por los seres humanos para tratar diversas enfermedades. Desde tiempos prehistóricos, el neem ha sido utilizado por la humanidad.³⁰ El nombre latinizado de neem, *Azadirachta indica*, se deriva del persa. Azad significa "libre"; dirakht significa "árbol"; i-Hind significa "de origen indio". El árbol de neem es una planta increíble que ha sido declarada el "Árbol del siglo XXI" por las Naciones Unidas.⁴²

La hoja de neem está compuesta por 8% de ceniza, 50% de carbohidratos, 20% de fibra, 15% de proteína, 5% de grasa, 2% de calcio, y además contiene 25 aminoácidos esenciales. El contenido y porcentaje de aminoácidos son conocidos. La tabla es como sigue: Alanina 1,2%, ácido aspártico 3,4%, ácido aspártico 2,7%, triptófano 1,4%, tanino 7,0%, valina 2,9%. También se proporciona el contenido en la hoja de carotene y ácido ascórbico.

1.3.2.4 Extracción con solventes

La extracción con solventes usando diferentes proporciones de agua, metanol, etanol, acetona, propanol, acetato de etilo y dimetilformamida se ha utilizado comúnmente para extraer sustancias fenólicas de frutas y sus desechos. Esto se debe a que estos extractantes pueden disolver una variedad de compuestos fenólicos. Aun así, el método de extracción debe poder extraer completamente los compuestos de interés y debe evitar su modificación química. Según investigaciones, el tipo de solvente y la polaridad pueden afectar la transferencia de electrones individuales y la transferencia de átomos de hidrógeno, que son aspectos clave en la medición de la capacidad antioxidante. Además, los extractos acuosos orgánicos

pueden contener no solo los antioxidantes sino también otros componentes de alimentos no antioxidantes que pueden interferir en los ensayos de capacidad antioxidante. Los mecanismos de extracción secuencial en alimentos, usando diferentes extractores, se usan muy comúnmente, especialmente porque este método de extracción puede proporcionar una mejor comprensión de los compuestos bioactivos y su biodisponibilidad, ya que considera la variabilidad de los fitoquímicos presentes en cada muestra y la influencia de los solventes. escriba en tales sistemas.⁴³

1.3.2.5 Métodos de obtención de extractos vegetales

Se pueden encontrar muchos compuestos antioxidantes en frutas y verduras, incluidos fenólicos, carotenoides, antocianinas y tocoferoles. Aproximadamente el 20% de las plantas conocidas se han utilizado en la investigación farmacéutica para afectar el sistema de salud de manera positiva, como el tratamiento del cáncer y enfermedades nocivas. Las plantas pueden producir una gran cantidad de compuestos biológicamente activos diferentes. Se pueden acumular altas concentraciones de fitoquímicos en frutas y verduras para prevenir el daño de los radicales libres.⁴⁴⁻⁴⁶

Numerosos estudios han demostrado que muchas plantas son ricas en antioxidantes. Por ejemplo, las vitaminas A, C, E y los compuestos fenólicos que se encuentran en las plantas, como los flavonoides, los taninos y la lignina, pueden actuar como antioxidantes. Debido a su valor medicinal y alto valor nutricional, el consumo de frutas y verduras se asocia con una variedad de beneficios para la salud.⁴⁷⁻⁴⁹

Los antioxidantes controlan y reducen el daño oxidativo en los alimentos al retrasar o inhibir la oxidación causada por las especies reactivas del oxígeno (ROS), lo que finalmente prolonga la vida útil y la calidad de estos alimentos. El betacaroteno, el ácido ascórbico y muchos fenoles desempeñan un papel activo para retrasar el envejecimiento, reducir la inflamación y prevenir ciertos tipos de

cáncer. Muchas instituciones y sistemas de salud de todo el mundo han recomendado aumentar el consumo de frutas y verduras.⁵⁰

Para extraer diferentes compuestos fenólicos de plantas con alta precisión, se deben utilizar varios disolventes con diferentes polaridades. Además, los científicos han descubierto que los disolventes altamente polares, como el metanol, son muy eficaces como antioxidantes.⁵¹⁻⁵²

Se informa que los extractos de etanol de plantas de marfil pueden extraer una mayor concentración / cantidad de sustancias fenólicas en comparación con la acetona, el agua y el metanol. Se ha utilizado comúnmente una variedad de solventes para extraer fitoquímicos. Los científicos generalmente usan polvos de plantas secas para extraer compuestos biológicamente activos mientras eliminan las interferencias en el agua. El disolvente utilizado para extraer biomoléculas de plantas se selecciona en función de la polaridad del soluto de interés. Los solventes con polaridad similar al soluto disolverán completamente el soluto. Se pueden usar múltiples disolventes de forma continua para limitar la cantidad de compuestos similares con el rendimiento deseado. La polaridad de algunos disolventes comunes varía de baja polaridad a alta polaridad de la siguiente manera: hexano <cloroformo <acetato de etilo <acetona <metanol <agua.^{53,54}

1.3.3 Normativa ambiental

En cuanto a la normativa emitida por la Organización Panamericana de la Salud en 2019, para el uso de plantas medicinales, la Administración General de Medicamentos, Insumos y Medicamentos (DIGEMID) dependiente del Ministerio de Salud del Perú es responsable del registro, reinscripción, modificación, rechazo, suspensión o suspensión del registro sanitario de medicamentos. CANCELACIÓN, y realizar el control y fiscalización del saneamiento de este. Las normas que rigen las plantas medicinales son la Ley N° 29459 promulgada en 2009 sobre medicamentos, dispositivos médicos y productos sanitarios. El Decreto Supremo 016-2011-SA

constituye el "Reglamento sobre Registro, Control y Supervisión de Medicamentos y Productos Sanitarios". Dispositivos y productos sanitarios, promulgado en 2011. Se han aprobado varias enmiendas para llenar algunos de los vacíos en las regulaciones anteriores.⁵⁵

Al hablar de recursos curativos naturales, veremos que están clasificados como recursos naturales para la salud y productos naturales para la salud en DS 004-2000-SA. Los recursos naturales para la salud se refieren a cualquier recurso natural (plantas, animales o minerales) que no hayan sido procesados o picados, deshidratados o triturados y que formen materias primas para preparar o elaborar productos naturales. Reconozca que, si la etiqueta de venta no tiene indicaciones de tratamiento, no se requiere ningún registro sanitario. Algunos ejemplos de recursos naturales son corteza de uña de gato, raíz de valeriana, hoja de bodo, arcilla y polvo de maca. Por tanto, de acuerdo con la autorización del registro sanitario, los recursos naturales pueden venderse en establecimientos farmacéuticos y comerciales sin receta. Por otro lado, los productos naturales para la salud constituyen un procesamiento industrial simple o complejo basado en uno o más recursos naturales, los que utilizan los recursos de forma aislada o sinérgica, y los que tienen una historia ancestral de reconocimiento y uso entre los pueblos indígenas. Personas que tienen una o más culturas tanto a nivel nacional como internacional. Por tanto, de acuerdo con la normativa del registro sanitario, los productos naturales se pueden vender con o sin receta.⁵⁵

1.3.4 Normativa de seguridad

Con respecto a la normativa de seguridad se habla de la ley nº 26842 – Ley general de salud donde hace referencia a:

LOS DERECHOS, DEBERES Y RESPONSABILIDADES
CONCERNIENTES A LA SALUD INDIVIDUAL

Artículo 15º.- Toda persona, usuaria de los servicios de salud, tiene derecho:

- A no ser sometida, sin su consentimiento, a exploración, tratamiento o exhibición con fines docentes.
- Que no se realicen experimentos de aplicación terapéutica o de fármacos sin haber sido informado formalmente de las condiciones experimentales, los riesgos y sin el consentimiento previo por escrito o el consentimiento de la persona requerida por la ley (si corresponde). Está prohibido hacerlo. A que se le brinde información veraz, oportuna y completa sobre las características del servicio, las condiciones económicas de la prestación y demás términos y condiciones del servicio;
- A que se le dé información completa y continua sobre tu proceso de manera comprensible, incluyendo diagnóstico, pronóstico y alternativas de tratamiento, así como riesgos, contraindicaciones, medidas preventivas y advertencias sobre prescripción y manejo de medicamentos.
- Ser informado de todo lo necesario para que pueda dar su consentimiento informado antes de aplicar cualquier procedimiento o tratamiento, así como rechazarlo.

DE LOS PRODUCTOS FARMACEUTICOS Y GALENICOS, Y DE LOS RECURSOS TERAPEUTICOS NATURALES

Artículo 49º.- La autoridad sanitaria nacional es responsable del control sanitario de los medicamentos y productos galénicos, y vela por el cumplimiento de las materias relevantes de esta ley y reglamento.

Artículo 50º.- La fabricación, importación, distribución o venta de todos los productos incluidos en las investigaciones requieren registro sanitario. Cualquier modificación también debe registrarse en el formulario de registro anterior.

1.3.4 Impacto ambiental

Según el informe de la Organización Panamericana de la Salud de 2019, actualmente se promueve la fitoterapia como una terapia leve, no agresiva

con una amplia gama de tratamientos para tratar enfermedades leves o moderadas y enfermedades crónicas.

La tendencia en el uso de plantas medicinales en el país indica que cerca del 80% de la población ya sabe utilizar las hierbas medicinales como recurso medicinal. Cabe señalar que el Perú es rico en diversidad multicultural y geográfica, y la diversidad vegetal de plantas medicinales también es alta. Por lo tanto, a pesar de una extensa investigación hasta ahora, todavía hay información para exploración e investigación. Debido a este enorme impacto, se deben establecer bancos de genes en cada área para garantizar la protección de la biodiversidad y proteger las semillas de plantas medicinales locales. Del mismo modo, también es importante detener la sobreexplotación de plantas medicinales que ocurren en hábitats naturales, apoyar la conservación de plantas in situ y organizar capacitaciones para terapeutas y productores locales en esta difícil tarea.

1.3.5 Gestión de riesgos

El nombre científico del árbol de Neem es *Azadirachta indica*, que es una planta medicinal con propiedades bactericidas, antipiréticas, antibacterianas, antiinflamatorias y antivirales. Basado en una investigación realizada por el Centro de Toxicología y Biomedicina. Santiago de Cuba. No hay estudios de toxicidad oral aguda, solo informes de toxicidad a largo plazo y bajo. Por tanto, los resultados muestran que la sustancia estudiada no producirá síntomas clínicos que demuestren toxicidad, no cambiará el peso corporal del modelo biológico animal utilizado y no provocará la muerte del animal; macroscópicamente, no se ha encontrado ningún cambio en el valor diagnóstico.

Las infecciones secundarias son causadas por microorganismos que no existían durante la infección primaria y que ingresan al sistema del conducto radicular durante el tratamiento, entre citas o después de que se completa el tratamiento de endodoncia. Si estos organismos pueden sobrevivir y colonizar el sistema de conductos radiculares, se producirá una infección. Otro tipo de infección de la pulpa dental es la infección intrarraíz

persistente. Esto es causado por microorganismos involucrados en infecciones primarias o secundarias. Pocas especies microbianas pueden resistir los cambios ambientales durante el tratamiento de endodoncia, lo que conduce al fracaso del tratamiento del conducto radicular.¹⁰

Finalmente, se describe la infección pulpar externa. Estas infecciones pueden ser primarias, secundarias o persistentes. La forma más común es el absceso perirraíz agudo. La fuente de infección extra-radicular suele ser una infección intra-radicular. Recientemente, estas últimas infecciones han atraído un interés considerable debido a su papel potencial en el fracaso de los tratamientos de endodoncia. Varios estudios han confirmado que existen infecciones extrarraíces incluso en dientes que han sido sometidos a tratamiento endodóntico. Dado que la cirugía endodóntica no quirúrgica no puede acceder al tejido perirraíz, este tipo de infecciones son la razón del fracaso del tratamiento endodóntico.¹⁰

1.3.6 Estado del arte

El Perú es rico en especies de plantas y frutos nativos, la mayoría de los cuales no están industrializados.

Moussa sp. (Musaceae), también conocida como "plátano", es una famosa fruta tropical y una importante fuente de alimento en el mundo. Esta planta de "banano" se originó en el Pacífico Sur occidental y se extendió a la India alrededor del año 600 aC, y luego a todo el mundo tropical. Puede que sea el cultivo cultivado más antiguo del mundo. Hay componentes químicos no alimenticios en Musaceae como: ácidos fenólicos, fructanos, terpenos, antocianinas y alcaloides esteroideos aislados como aminos básicos y alcaloides indol. De manera similar, el 85% del jugo de banano está compuesto de agua. Se ha encontrado que el extracto de hoja contiene una mezcla de polihidroxifenoles y taninos, y también tiene propiedades antibióticas.²

Esto tiene un valor medicinal muy eficaz, el jugo del tallo se utiliza para diferentes afecciones como trastornos neurológicos, epilepsia, histeria, disentería y diarrea. Se dice que varios oligosacáridos existen naturalmente

en los plátanos, incluyendo fructosa, xilosa, glucosa, galactosa y manosa, lo que los convierte en un excelente probiótico para el crecimiento de bacterias beneficiosas en el intestino. Se estima que Musa incluye un promedio de 70 especies y más de 500 variedades, y aún no se han descubierto nuevas especies.

Cuando hablamos de microorganismos, suelen estar ubicados en una zona muy específica del conducto radicular, asegurando así su supervivencia y la capacidad de expresar factores patógenos, lo que les permite reunirse, penetrar y así colonizar los tejidos afectados.

Asimismo, en el tratamiento de las lesiones pulpo-periapicales, es comprensible que uno de los objetivos básicos del tratamiento endodóntico sea poder eliminar en la mayor medida los microorganismos del conducto radicular del diente. El método principal para lograr este objetivo es combinar instrumentos (utilizando instrumentos de endodoncia estandarizados para limpiar mecánicamente la pared dentinaria del conducto radicular) y enjuagar el conducto radicular con una solución con fuertes propiedades antisépticas; pero de esta manera no irritarán demasiado el conducto radicular. área periapical Tejido conectivo. En los últimos años se han realizado diversos estudios para eliminar *Enterococcus faecalis*, por tratarse de una bacteria altamente resistente a los antibióticos, especialmente para el tratamiento farmacológico intracanal durante el tratamiento de conductos radiculares necróticos. Pocos estudios han utilizado Musa acuminata, por lo que resulta que de esta forma se puede encontrar un método alternativo de inhibición de *Enterococcus faecalis*, reduciendo así la falla pulpar provocada por este microorganismo, por lo que el propósito de este estudio es evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de Musa Efectivo contra *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.²

1.3.7 Definición de términos

Infección: Enfermedad provocada por microorganismos que invaden los tejidos.

Patógeno: Es cualquier microorganismo que puede producir una determinada enfermedad o daño en el huésped, ya sea un animal o una planta.

Asepsia: Ausencia de microorganismos patógenos para que no causen infección.

Antibiótico: Son medicamentos que combaten infecciones causadas por bacterias en los seres humanos y los animales ya sea matando las bacterias o dificultando su crecimiento y multiplicación.

Microbiología: Responsable de la investigación y análisis de microorganismos, es decir, la ciencia de organismos diminutos que son invisibles a simple vista.

Biopelícula: Es un ecosistema microbiano organizado que consta de uno o más microorganismos asociados con superficies activas o inertes.

Desbridamiento: Remoción del tejido muerto o dañado de una herida para mejorar el proceso de cicatrización

Solventes: Remoción del tejido muerto o dañado de una herida para mejorar el proceso de cicatrización.

Fitoquímicos: Compuestos producidos por plantas que generalmente juegan un papel en el crecimiento de las plantas o su defensa contra competidores, patógenos o depredadores.

Bactericida: Efecto que produce la muerte a una bacteria y está provocado por alguna sustancia bactericida.

UFC: Unidad formadora de colonias.

CMI: Concentración mínima inhibitoria.

CMB: Concentración mínima bactericida.

1.3.4 Estudio económico

- De acuerdo con una de las etapas más importantes y relevantes de cualquier proyecto antes de su lanzamiento, independientemente de sus características, se debe realizar un estudio de factibilidad para garantizar la seguridad del proceso, cuyo único propósito es analizar si su lanzamiento es factible. Por lo tanto, la efectividad del estudio dependerá completamente de si se han considerado todas las

intervenciones en el proceso y los factores que pueden tener serios riesgos para su éxito. La implementación de cualquier proyecto debe especularse mediante un análisis minucioso teniendo en cuentas los recursos administrativos, requisitos legales y gastos económicos.

Por tanto, el estudio económico del proyecto es uno de los pasos clave y estratégicos para determinar la viabilidad del proyecto y hacerlo efectivo, pero no es el único paso. La investigación basada únicamente en aspectos económicos será incompleta, por lo que su viabilidad no será confiable.

1.4. Formulación del Problema.

¿Cuál es el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212?

1.5. Justificación e importancia del estudio.

En los últimos años, la medicina natural se ha utilizado como una solución alternativa para mejorar la salud de la población, pero en el campo de la odontología, debido a la falta de investigaciones relacionadas con este tema en la región de Lambayeque y el país, la medicina tradicional es escasa. conocido, a pesar de que, vivimos en un país con una rica flora y biodiversidad, como es el Neem. En la actualidad, el sistema de conductos radiculares puede estar infectado por una serie de microorganismos en la cavidad bucal, estos microorganismos colonizarán el conducto radicular de diferentes formas, por lo que este estudio tiene como objetivo encontrar el efecto bactericida de *Enterococcus faecalis* considerada como un factor importante en el fracaso del tratamiento endodóntico.

La investigación actual es de importancia clínica porque si se encuentra que el extracto de agua etanol de Neem (Neem) puede tener efectos antibacterianos sobre las cepas de *Enterococcus faecalis*, se puede realizar una investigación, centrándose en el uso de esta planta para ayudar a mejorar un tratamiento y práctica, desinfectar eficazmente el conducto radicular, y asegurar la eliminación de microorganismos

resistentes a irrigadores químicos mediante el uso de este recurso que se encuentra en nuestra zona.

Considerando que este recurso natural es parte de nuestro entorno circundante, tiene racionalidad social, es fácil de obtener y reduce el costo de obtenerlo, además, aún no se han definido efectos adversos. La población puede reducir su alto porcentaje de enfermedades bucales, como la caries dental, porque se ha comprobado su efecto antibacteriano sobre uno de sus patógenos patógenos. Tiene como objetivo promover el uso de plantas medicinales para mejorar la salud bucal. Si obtiene buenos resultados, puede contribuir a la sociedad dental y realizar investigaciones que conduzcan al uso del neem como irrigante del conducto radicular para inhibir el desarrollo de bacterias y garantizar el éxito del tratamiento de endodoncia.

1.6. Hipótesis.

Ha. Existe efecto antibacteriano *in vitro* de tipo bactericida del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

Ho. No existe efecto antibacteriano *in vitro* de tipo bactericida del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

1.7. Objetivos.

1.7.1. Objetivo General

Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

1.7.2. Objetivos Específicos

1. Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* de la concentración de 800 µg/mL del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

2. Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* de la concentración de 900 µg/mL del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.
3. Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* de la concentración de 1000 µg/mL del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

II. MÉTODO

2.1. Tipo y Diseño de Investigación.

2.1.1. Tipo de Investigación

Según el fin que persigue: Investigación de tipo Básica.

Según el nivel: Analítica

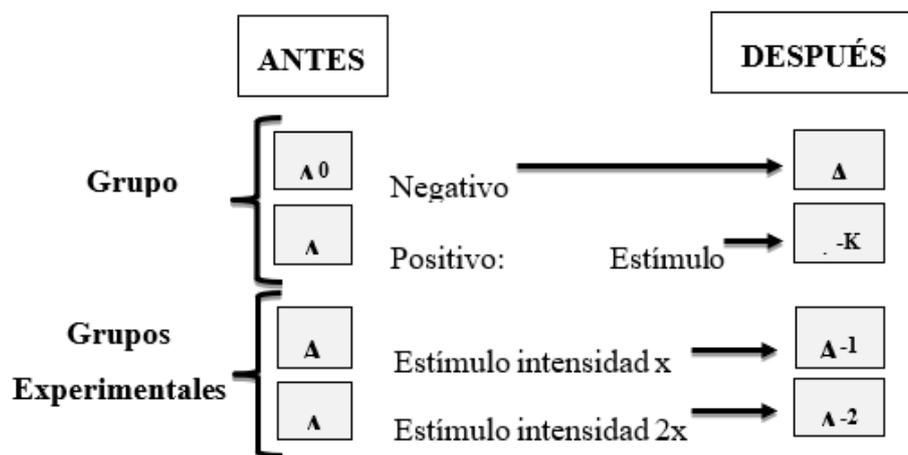
Según el diseño de experiencias: Investigación de tipo explicativa.

Según el momento en que se recopilan los datos: Transversal

Según el tipo de dato recolectado: Cuantitativa

2.1.2. Diseño de Investigación

Investigación de tipo experimental con diseño de estímulo creciente con post prueba únicamente y grupo control.



2.2. Población y muestra.

2.2.1. Población

Debido a que la presente investigación es de diseño experimental, donde el investigador manipula y controla a las variables la población estuvo constituida por la cepa estándar de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

2.2.2. Muestra

Bajo el mismo concepto, la muestra estuvo conformada por el inóculo de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 que fue equivalente a una concentración bacteriana de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. Que fue contrastado por espectrofotometría uv-vis.

2.2.3. Cálculo del número de repeticiones

El número de repeticiones para cada ensayo se determinó desarrollando la siguiente fórmula estadística aplicada en investigaciones experimentales:

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

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

$$n = \frac{0,80 - 0,64 \times 0,842 + 2,74^2}{0,64}$$

$$n = \frac{-2,4828^2}{0,64}$$

$$n = 9$$

Reemplazando se obtiene 9 repeticiones para cada grupo experimental. Lo que hicieron un total de 45 unidades de ensayo incluyendo controles, como el control positivo que fue la clorhexidina al 2% y el grupo de control negativo que fue la Solución Salina Fisiológica estéril (SSFE).

2.3. Variables, Operacionalización.

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	INDICADORES	VALOR FINAL	TECNICA	INSTRUMENTO	TIPO DE VARIABLE	ESCALA
Efecto antibacteriano	Es una sustancia que debe inhibir el crecimiento o eliminar completamente los patógenos bacterianos sin causar daño a los organismos que viven en ella.	Recuento < 1 UFC/placa= Bactericida Recuento > 1 UFC/placa= Bacteriostático	UFC/placa	Observación Medición	Ficha de recolección de datos Guía de análisis Documental	Cuantitativa - continua	De razón
Extracto hidroetanólico de <i>Azadirachta indica</i> (neem)	Sustancias obtenidas a partir de materias primas al penetrar o impregnar disolventes y luego eliminarlos mediante procesos físicos.	1 g de extracto seco de <i>Azadirachta indica</i> (neem)	Concentraciones 800 µg/mL 900 µg/mL 1000 µg/mL	Observación y medición	Ficha de recolección de datos. Guía de análisis documental	Cuantitativa - Discreta	De razón

2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.

2.4.1. Técnicas

La técnica utilizada fue la observación y medición microbiológica. Consiste en el recuento de unidades formadoras de colonias que crecen después de determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC) y la concentración mínima bactericida (CMB).

2.4.2. Instrumentos de recolección de datos

El instrumento para realizar esta investigación y obtener los resultados fue la ficha de recolección de datos y la guía de análisis documental.

2.4.3. Instrumentos de Medición

2.4.2.1 Contador de colonias digital marca Giardino

Es un instrumento de recolección de datos, es un contador de colonias automático de alta resolución que permite seleccionar todo tipo de placas para conteo bacteriano por color, mejorando así la eficiencia y productividad de los resultados.

2.4.2.2 Vernier milimétrico marca Starrett

Instrumento con el que se midieron los diámetros de halos de inhibición formados por cada concentración de extracto evaluado.

2.4.4. Validez y confiabilidad

Al ser una investigación experimental. La validez y confiabilidad se logró utilizando el método de difusión en disco y de microdilución que son métodos microbiológicos estandarizados internacionalmente por la *Clinical & Laboratory Standards Institute* (CLSI). Así mismo se realizó una prueba piloto y la ejecución de la investigación utilizando insumos certificados como los medios de cultivo MERCK con certificación ISO, la cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 certificada y la asesoría y supervisión de un microbiólogo especialista junto al instrumento para la recolección de datos, como se evidencia en el ANEXO 2 y 5.

2.4.5. Protocolo de experimentación

2.4.5.1. Obtención del extracto hidroetanólico de las hojas de *Azadirachta indica* (neem)

Las hojas de *Azadirachta indica* fueron seleccionadas, lavadas y desinfectadas. Luego fueron secadas en estufa y posteriormente se realizó su molienda. El extracto se preparó utilizando un sistema de extracción Soxhlet de 20 mg de cada muestra durante 6 h en aproximadamente 250 ml de hidroetanol y luego se concentró a sequedad a presión reducida utilizando un evaporador rotatorio, y los residuos se almacenaron a 4 °C.

2.4.5.2. Obtención y reactivación de la Cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

La cepa bacteriana utilizada para preparar el inóculo es una cepa certificada de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Las cepas fueron provistas por el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Señor de Sipán. Antes de su uso, se realizaron pruebas de identificación morfológica y fenotípica para su confirmación.

2.4.5.3. Evaluación de la actividad antimicrobiana.

Se utilizó el método de difusión en disco para la determinación del efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico. Para ello se sirvieron placas petri con medio de cultivo Mueller Hinton y en cuya superficie se sembró por dispersión el inóculo bacteriano de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 equivalente a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. Inmediatamente sembrada la bacteria se colocaron discos de papel de filtro de 6 mm de diámetro, embebidos con las concentraciones del extracto evaluado. Las diferentes concentraciones del extracto se obtuvieron diluyendo el extracto total según peso y volumen utilizando (DMSO). Las placas de agar inoculadas se dejaron en el refrigerador durante

aproximadamente una hora para asegurar una difusión adecuada. Luego los cultivos bacterianos fueron incubados a 37 °C durante 24 horas. Se utilizó Gluconato de clorhexidina al 2% como control positivo. Todos los ensayos se realizaron en condiciones de asepsia. Los resultados obtenidos fueron el promedio de todas las replicaciones. Los halos de inhibición se midieron con un calibre vernier marca *Starrett*.

2.4.5.4. Determinación de la concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida

Se utilizó el método de microdilución en caldo para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) del extracto de *A. indica*. Se prepararon 10 diluciones del extracto desde 100 a 1000 µg/mL en pocillos de micro titulación. Después de la incubación a 37 °C durante 24 h, se observaron pocillos para detectar cualquier crecimiento visible. Las suspensiones bacterianas se usaron como control positivo y los extractos en el caldo se usaron como control negativo. La interpretación de la CMI y CMB se realizó como la concentración más baja del extracto que no mostró ningún crecimiento visible en comparación con los controles.

2.5. Procedimientos de Análisis de datos.

Los resultados fueron tabulados en programa Microsoft Excel 2010 y analizados a través del paquete estadístico SPSS v.24. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y el análisis de significancia se realizó mediante la prueba de Duncan, con respecto a el halo de inhibición en mm de *Enterococcus faecalis*, donde se determinó que si existe diferencia entre los tratamientos ya que la diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

2.6. Criterios éticos.

Con respecto al punto de vista ético las muestras de la presente investigación son veraz, conforme a la data que se recolecto es real, pues fueron procesadas en el laboratorio de Microbiología de la Universidad

César Vallejo – Filial Piura, y se emitieron las constancias respectivas, todo ello con el único propósito de dar un aporte confiable para la solución del problema planteado en la investigación. El soporte teórico de esta investigación se respetó con referencia a la autoría y propiedad, ya que se citó en su totalidad a los trabajos de investigación, artículos científicos, revistas y repositorios.

Se cumplieron todas las normas de bioseguridad y de disposición de residuos establecidos en el manual de operación y funciones del laboratorio de microbiología y del laboratorio de investigación de la Facultad de Ciencias de la Salud, así como en el Manual de Bioseguridad de la Organización Mundial de la Salud y el Manual de bioseguridad en Odontología del Colegio Odontológico del Perú.^{75, 76}

2.7. Criterios de Rigor Científicos

Valor de verdad:

El estudio es aplicable a cualquier *Enterococcus faecalis* porque se utilizó la cepa certificada ATCC 29212. La adquisición de plantas extraídas se ubica en latitud y longitud para dirigir los resultados al área donde se adquirieron las plantas.

Aplicabilidad:

Se utilizaron métodos microbiológicos estandarizados, 10 réplicas y 4 réplicas de experimentos de investigación, asegurando así la capacidad de replicación de otros investigadores en las mismas condiciones.

Consistencia:

El uso de cepas certificadas y protocolos estandarizados aseguran la reproducibilidad de la investigación en las mismas condiciones experimentales.

Validez:

El estudio señaló el valor del éxito de la investigación realizada, las conclusiones extraídas y la posibilidad de reproducibilidad en investigaciones externas, así como los datos de control interno para la

aplicación de procedimientos experimentales o instrumentos de medición y recolección.

Confiabilidad:

La confiabilidad del instrumento depende de la estabilidad de los datos obtenidos y de la eliminación del riesgo de cambios entre diferentes situaciones y aplicaciones, lo cual depende tanto de estrictos aspectos técnicos como humanos; por lo tanto, no es solo el estado del instrumento lo que asuntos y ajustes oportunos, como la formación y capacitación del personal.

Objetividad:

Como investigación experimental, la repetición y la repetición pueden prevenir los sesgos asociados con los investigadores. Para ello, también se cuenta con la supervisión de un microbiólogo experto, que guió el correcto desarrollo de la investigación.

III. RESULTADOS

3.1. Determinación del efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

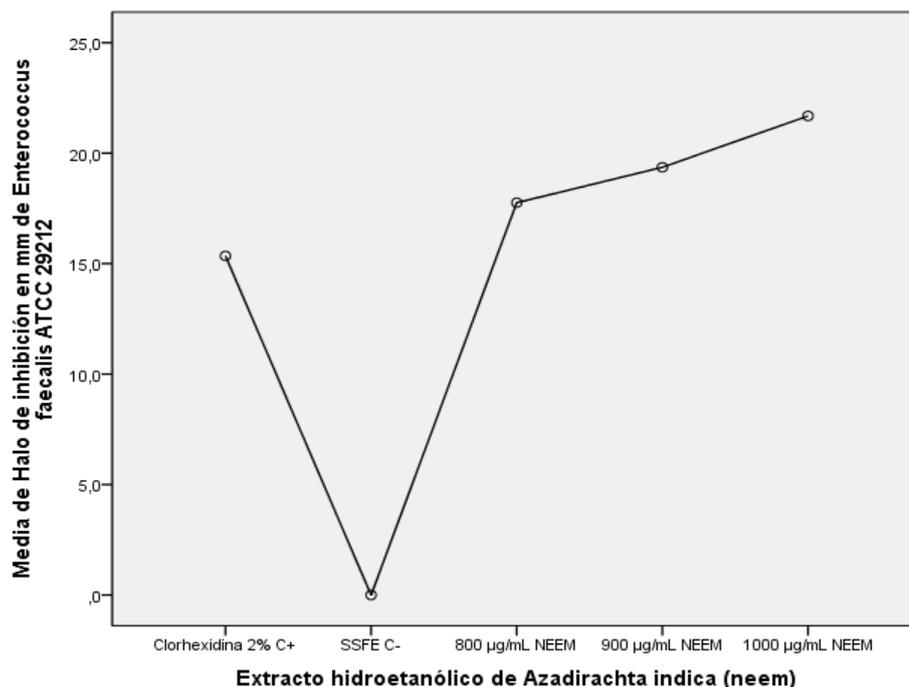


Figura 1: Diámetro de halo de inhibición promedio del efecto antibacteriano *in vitro* de tres concentraciones del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Fuente. Análisis de datos.

La figura 1 muestra los promedios de los halos de inhibición (efecto antibacteriano) formados por las concentraciones de 800, 900 y 1000 µg/mL del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) comparado con un control positivo Gluconato de Clorhexidina 2% y Solución Salina Fisiológica estéril (SSFE) como control negativo. Se observa que la clorhexidina al 2% formó un halo promedio de 15,4 mm, el extracto hidroetanólico de neem a la concentración de 800 µg/mL un halo de 17,8 mm, a la concentración de 900 µg/mL un halo de 19,4 mm y a la concentración de 1000 µg/mL un halo de 21, mm. El control negativo no formó halos de inhibición.

3.1.1 Determinación del efecto antibacteriano *in vitro* de la concentración de 800 µg/mL del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

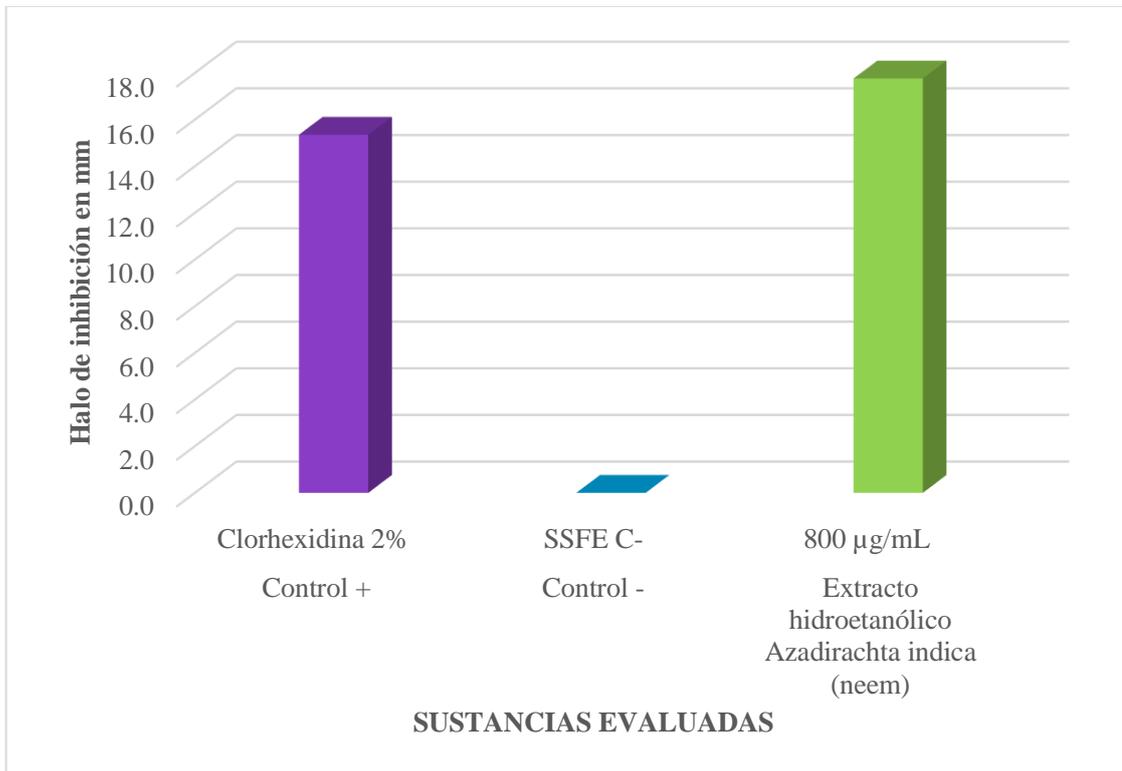


Figura 2: Diámetro de halo de inhibición promedio del efecto antibacteriano *in vitro* de la concentración de 800 µg/mL del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Fuente. Análisis de datos

La figura 2 muestra los promedios de los halos de inhibición (efecto antibacteriano) formados por la concentración de 800 µg/mL del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) comparado con un control positivo Gluconato de Clorhexidina 2% y Solución Salina Fisiológica estéril (SSFE) como control negativo. Se observa que la clorhexidina al 2% formó un halo promedio de 15,4 mm, el extracto hidroetanólico de neem a la concentración de 800 µg/mL un halo de 17,8 mm. El control negativo no formó halos de inhibición.

3.1.2 Determinación del efecto antibacteriano *in vitro* de la concentración de 900 µg/mL del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

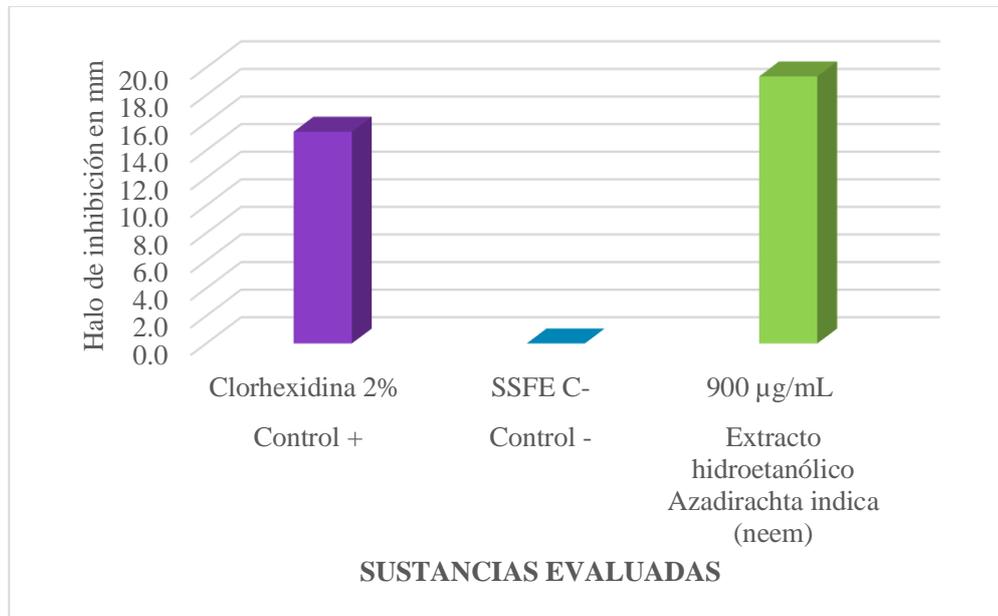


Figura 3: Diámetro de halo de inhibición promedio del efecto antibacteriano *in vitro* de la concentración de 900 µg/mL del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Fuente. Análisis de datos

La figura 3 muestra los promedios de los halos de inhibición (efecto antibacteriano) formados por la concentración de 900 µg/mL del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) comparado con un control positivo Gluconato de Clorhexidina 2% y Solución Salina Fisiológica estéril (SSFE) como control negativo. Se observa que la clorhexidina al 2% formó un halo promedio de 15,4 mm, el extracto hidroetanólico de neem a la concentración de 900 µg/mL un halo de 19,4 mm. El control negativo no formó halos de inhibición.

3.1.3 Determinación del efecto antibacteriano *in vitro* de la concentración de 1000 µg/mL del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

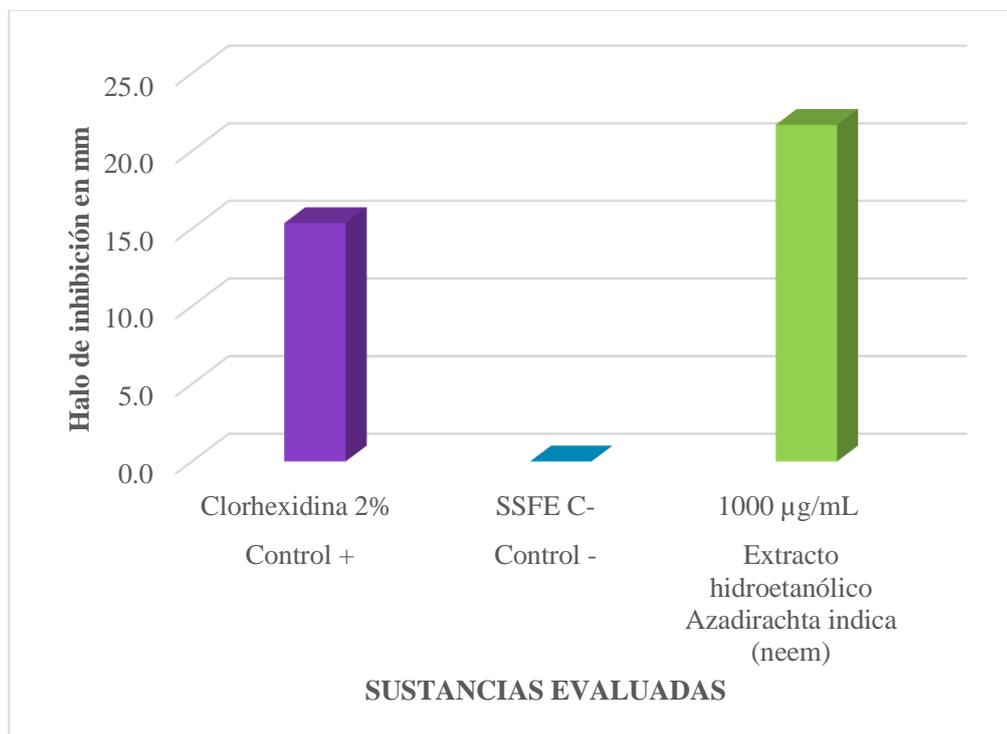


Figura 4: Diámetro de halo de inhibición promedio del efecto antibacteriano *in vitro* de la concentración de 1000 µg/mL del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Fuente. Análisis de datos

La figura 4 muestra los promedios de los halos de inhibición (efecto antibacteriano) formados por la concentración de 1000 µg/mL del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) comparado con un control positivo Gluconato de Clorhexidina 2% y Solución Salina Fisiológica estéril (SSFE) como control negativo. Se observa que la clorhexidina al 2% formó un halo promedio de 15,4 mm, el extracto hidroetanólico de neem a la concentración de 1000 µg/mL un halo de 21,7 mm. El control negativo no formó halos de inhibición.

3.2. Discusión de resultados

Los resultados obtenidos en la presente investigación se expresaron a través de los promedios de los halos de inhibición (los halos de inhibición es una forma de medir el efecto antibacteriano) formados por las concentraciones de 800, 900 y 1000 µg/mL del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) comparado con un control positivo Gluconato de Clorhexidina 2% y Solución Salina Fisiológica estéril (SSFE) como control negativo. Se reportó que la clorhexidina al 2% formó un halo promedio de 15,4 mm, el extracto hidroetanólico de neem a la concentración de 800 µg/mL un halo de 17,8 mm, a la concentración de 900 µg/mL un halo de 19,4 mm y a la concentración de 1000 µg/mL un halo de 21, mm. El control negativo no formó halos de inhibición. Las tres concentraciones del extracto evaluado tuvieron un efecto antibacteriano mayor al presentado por el control positivo.

Estos resultados difieren con los obtenidos por Hugar S, et al.¹⁴ quienes compararon la eficacia del aceite de ajo, aceite de neem, aceite de clavo y aceite de tulsi en la capacidad de desinfección de *Enterococcus faecalis* en la lima K del conducto radicular. Reportando que de todos los aceites esenciales probados el único que no mostró actividad desinfectante fue el aceite de neem. Esto probablemente pudo deberse a que ellos utilizaron el aceite esencial de neem mientras que en la presente investigación se trabajó con extracto hidroetanólico y bibliográficamente se ha demostrado que uno de los productos vegetales con mayor cantidad de principios bioactivos encontrados son los extractos obtenidos con solventes orgánicos. Además, la recuperación de compuesto aumenta si se utilizan mezclas hidroalcohólicas como fue en este caso. La otra diferencia que pudo influenciar es que el inóculo de *Enterococcus faecalis* en el caso de la investigación de Hugar fue utilizado para contaminar elementos en la presente investigación fue probado directamente sobre ella.

Por su parte Arévalo-Híjar, et al.¹⁵ evaluó in vitro el efecto antibacteriano y citotóxico de 2 extractos metanólicos de *Azadirachta indica* y *Moringa*

oleifera contra *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Para el caso del extracto de neem, reportaron halos de inhibición promedios de 35.5 mm. Llegaron a la conclusión de que los extractos de metanol de Neem y Moringa tienen efectos antibacterianos sobre las cepas de *Enterococcus faecalis*. Estos resultados están relacionados con los resultados obtenidos en este estudio porque la inhibición promedio del halo reportada a la concentración más alta evaluada (1000 µg / mL) es de 21 mm. La diferencia mostrada entre el promedio de los halos de cada estudio puede estar asociado al tipo de extracto evaluado. Pues mientras Arévalo-Híjar evaluó un extracto metanólico, la presente investigación elaboró un extracto hidroetanólico. Teóricamente se conoce que los tipos de solventes y el método de extracción pueden influir en la recuperación de los diferentes tipos de principios activos vegetales.

Los resultados obtenidos en la presente investigación también se relacionan parcialmente con los obtenidos por Joy Sinha D, et al.¹⁶ quienes compararon las propiedades antibacterianas del neem (Neem) o la cúrcuma (cúrcuma) con *Enterococcus faecalis* y las propiedades antibacterianas del hipoclorito de sodio al 5% y la clorhexidina al 2% como irrigante del conducto radicular in vitro? Informan que el Neem tiene una actividad antibacteriana equivalente a la clorhexidina al 2% o al hipoclorito de sodio contra *Enterococcus faecalis*, lo que indica que proporciona una alternativa prometedora a otros irrigantes del conducto radicular probados. La similitud de los resultados globales puede deberse a que Joy Sinha también evaluó el extracto de alcohol y lo comparó con el control positivo de clorhexidina al 2%. En el presente estudio se reportó efectividad antibacteriana del neem, pero la diferencia con el estudio de Joy es que mientras ellos reportaron un efecto equivalente al del antiséptico evaluado en el presente estudio el efecto antibacteriano fue mayor. Esto pudo deberse a que nuestro estudio fue in vitro, es decir con condiciones controladas en el caso de ellos fue un estudio in vivo en el conducto radicular y en esas condiciones se presentan variables extrañas que podrían afectar los resultados.

Así mismo, Singaravelu S, et al.¹⁷ determinaron la acción antibacteriana del extracto de corteza de *A. indica* sobre *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus mirabilis*. Se utilizó ciprofloxacina (5 µg por disco) como control positivo. Reportaron que el extracto de corteza de *A. indica* mostró actividad antibacteriana contra *E. faecalis* en todas las concentraciones probadas. Estos resultados son importantes porque demuestran que permiten confirmar la capacidad antibacteriana de los productos vegetales obtenidos a partir del neem. Pues a pesar de que ellos evaluaron el extracto de la corteza y como se sabe la mayor cantidad de metabolitos secundarios se encuentran en las hojas y no en el tallo ni en la corteza, pero aun así el producto obtenido por ellos tuvo efecto antibacteriano en todas sus concentraciones que incluían una concentración menor a las evaluadas en la presente investigación que fue 800 µg/mL.

Por su parte, Anand S, et al.¹⁸ comparó la eficacia antibacteriana de *Azadirachta indica* (Neem), *Commiphora myrrha* (Mirra), *Glycyrrhiza glabra* (Regaliz) con clorhexidina 2% contra *E. faecalis*. Reportaron que el extracto de mirra mostró una inhibición de *E. faecalis* igual a la de clorhexidina 2% seguida de Neem, regaliz y solución salina que no tuvo efecto. Estos resultados se relacionan con los obtenidos en la presente investigación. También se corroboran con los obtenidos por Mustafa M.¹⁹ quien evaluó la eficacia antimicrobiana del extracto de *Azadirachta indica* contra *Enterococcus faecalis*. El informe encontró que el efecto fue significativamente mayor que el del grupo de control. El análisis de varianza mostró una diferencia significativa en el diámetro del área de *Enterococcus faecalis* entre clorhexidina, extracto de hoja de neem e hipoclorito de sodio al 3% ($p < 0.05$). Concluyeron que la zona de inhibición mostrada por el extracto de hoja de neem es comparable a la de la clorhexidina y el hipoclorito de sodio.

Estos resultados obtenidos y los reportados por varios investigadores no sólo permiten confirmar la alta capacidad antibacteriana de los principios activos de *Azadirachta indica* (neem), contra distintos patógenos de importancia clínica incluidos *Enterococcus faecalis* que es el

microorganismo más prevalente en los casos de fracaso del tratamiento endodóntico sino que también permiten proponer que en un futuro cercano se puedan utilizar los principios activos antibacterianos presentes en esta planta como los terpenos y compuestos fenólicos para que sean incorporados en solución irrigante y en otros productos orales que permitan mejorar la salud bucal de los pacientes y por ende la salud general.

3.3. Aporte práctico

Este trabajo contribuirá en ampliar investigación y datos sobre el efecto antibacteriano que tiene el extracto de *Azadirachta indica* (neem) y así poder contrastar la información con otros estudios similares. De este modo la medicina natural pasará a ser fuente confiable para poder realizar mejoramientos en la práctica y terapia odontológica debido al gran efecto que esta posee para poder eliminar al microorganismo, aquel que es capaz de sobrevivir en un medio poco probable, pero sí posible y continuar con su labor de infección como lo viene haciendo a la fecha.

La investigación abre paso a poder concretar y plasmar en protocolos de desinfección para la práctica clínica, previamente habiendo evaluado el uso directo y descartar algún tipo de complicación y toxicidad para el ser humano, a corto y largo plazo. De esta manera se podrá hablar de una odontología completa y segura, ya que como resultados de este estudio se a determinado efecto antibacteriano del extracto de la hoja en sí de este árbol, a mayor concentración mejor efecto antibacteriano. Pues aún quedan estudios pendientes de otras partes del árbol de neem, para ver la efectividad de cada una de ellas y basarnos en la mejor.

Se debe procurar y hacer hincapié en abarcar en su mayoría los estudios a la medicina natural, ya que de ello también podremos ir complementando la práctica clínica con producto que complementen el tratamiento en consultorio y de uso diario porque no, como por ejemplo los productos de higiene oral.

IV. CONCLUSIONES

4.1. Conclusiones

1. Se ha logrado identificar que el extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) presenta mayor efecto antibacteriano sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 que el control positivo clorhexidina 2% y que el control negativo solución salina fisiológica estéril (SSFE)
2. Del mismo modo se logró identificar que la concentración de 800 µg/mL del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) tiene efecto antibacteriano sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 mayor al del control positivo clorhexidina 2% y al del negativo Solución salina fisiológica estéril (SSFE).
3. Con respecto a la concentración de 900 µg/mL del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) tiene efecto antibacteriano sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 mayor al del control positivo clorhexidina 2% y al del negativo Solución salina fisiológica estéril (SSFE).
4. Así mismo, la concentración de 1000 µg/mL del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (neem) tiene efecto antibacteriano sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 mayor al del control positivo clorhexidina 2% y al del negativo Solución salina fisiológica estéril (SSFE).

4.2. Recomendaciones

1. Se recomienda investigar y purificar los principios activos de *Azadirachta indica* (neem) que sean los responsables de la actividad antibacteriana mostrada.
2. Se recomienda que se evalúen diferentes tipos de extractos de diferentes muestras de *Azadirachta indica* (neem) para establecer que parte de la planta es la que concentra la mayor cantidad de

principios activos y cuál es el método de extracción más adecuado.

3. Se recomienda evaluar la toxicidad del extracto para asegurar su uso futuro en investigación clínica.
4. Se recomienda después de la evaluación en su totalidad para la utilización en personas, tener en la mira la elaboración de productos de higiene oral que nos permitan apoyar al trabajo clínico desde casa, para una odontología moderna y completa.

REFERENCIAS

1. Hugar S, Patel PM, Nagmoti J, Uppin C, Mistry L, Dhariwal N. Una evaluación comparativa in vitro de la eficacia de la capacidad de desinfección del aceite de ajo, aceite de neem, aceite de clavo y aceite de tulsi con autoclave en endodónticos K Files probado contra *enterococo faecalis*. *Int J Clin Pediatr Dent* 2017; 10 (3): 283-288. Disponible en: DOI: 10.5005 / jp-journals-10005-1451.
2. Mittal A, Tejaswi S, K M, Shetty S, Reino Unido A. Comparación de la actividad antibacteriana de los geles de hidróxido de calcio, *Azadirachta Indica* (Neem), *Ocimum Tenuiflorum* (Tulsi) y *Punica Granatum* (Granada) como medicamentos intracanales contra *Enterococcus faecalis*: un estudio in vitro. *Revista Pharmacognosy*. 2021;13(4):988-994.
3. Singaravelu S, Sankarapillai J, Sasidharn Chandrakumari A, Sinha P. Efecto de las concentraciones de extracto de corteza de *azadirachta indica* contra patógenos bacterianos grampositivos y gramnegativos. *J Pharm Bioallied Sci*. 2019 enero-marzo; 11 (1): 33-37. doi: 10.4103 / jpbs. JPBS_150_18.
4. Joy Sinha D, DS Nandha K, Jaiswal N, Vasudeva A, Prabha Tyagi S, Pratap Singh U. Efecto antibacteriano de *Azadirachta indica* (Neem) o *Curcuma longa* (cúrcuma) contra *Enterococcus faecalis* en comparación con el del 5% de hipoclorito de sodio o el 2% de clorhexidina in vitro. *Bull Tokyo Dent Coll*. 2017; 58 (2): 103-109. doi: 10.2209 / tdcpublication.2015-0029.
5. Anand S, Rajan M, Venkateshbabu N, Kandaswamy D, Shrivaya Y, Rajeswari K. Evaluación de la eficacia antibacteriana de *Azadirachta Indica*, *Commiphora Myrrha*, *Glycyrrhiza Glabra* contra *Enterococcus Faecalis* utilizando PCR en tiempo real. *Open Dent J*. 2016 11 de mayo; 10: 160-5. doi: 10.2174 / 1874210601610010160. eCollection 2016.
6. Mustafa M. Eficacia antibacteriana del extracto de Neem (*Azadirachta indica*) contra *Enterococcus faecalis*: un estudio in vitro. *J Contemp Dent Pract*. 1 de octubre de 2016; 17 (10): 791-794.
7. Saxena D, Saha SG, Saha MK , Dubey S , Khatri M. (India, 2015). Una evaluación in vitro de la actividad antimicrobiana de cinco extractos de hierbas

- y la comparación de su actividad con hipoclorito de sodio al 2,5% frente a *Enterococcus faecalis*. Indian J Dent Res. 2015 septiembre-octubre; 26 (5): 524-7. Doi: 10.4103 / 0970-9290.172080.
8. Arévalo-Híjar L, Aguilar-Luis MÁ, Caballero-García S, Gonzáles-Soto N, Del Valle-Mendoza. Efectos antibacterianos y citotóxicos de los extractos metanólicos de *Moringa oleifera* (Moringa) y *Azadirachta indica* (Neem) contra las cepas de *Enterococcus faecalis*. Int J Dent. 2018 25 de septiembre; 2018: 1071676. Disponible en. Doi: 10.1155 / 2018/1071676. eCollection 2018.
 9. Cano-Urteaga W. Efecto del extracto etanólico de *Azadirachta indica* (NEEM) sobre la viabilidad in vitro de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. [Tesis de Título]. Piura, Perú. Universidad César Vallejo, 2017. 53 pp. Disponible en: <http://repositorio.ucv.edu.pe/handle/UCV/730>.
 10. Ortiz Hernández F, Mejia Delgado E, Espinoza Salcedo MV, Ortiz Hernández F, Mejia Delgado E, Espinoza Salcedo MV. Efecto antibacteriano de la *Musa acuminata* (Musaceae) frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Arnaldoa [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2021 Oct 25];28(1):125–38. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?Pid=S2413-32992021000100125&script=sci_arttext
 11. Edu.pe. [citado el 20 de diciembre de 2021]. Disponible en: <https://repositorio.uss.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12802/5952/Arriola%20OGarc%c3%ada%20Rosa%20Flor.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 12. Martínez Ruiz VY. Efecto antibacteriano y antifúngico in vitro del extracto etanólico de *nasturtium officinale* (Berro) sobre *enterococcus faecalis* y *cándida albicans*. Universidad Privada Antenor Orrego; 2021.
 13. Fong O, Berenguer C, De la Vega J, Wawoe N, Puente E. Potencial antioxidante de un extracto acuoso de hojas del NEEM (*Azadirachta Indica* A. Juss). Rev Cubana Plant Med [Internet]. 2014 [citado 2018 Ago 03]; 19(2): 205-207. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962014000200009&lng=es.
 14. González-Gómez R, Otero-Colina G, Villanueva-Jiménez J, Santillán-Galicia T, Peña-Valdivia C, Santizo-Rincón J. Efectos del neem (*Azadirachta indica*)

- sobre las abejas obreras y reinas, mientras se aplica al control Varroa destructor. Journal of Apicultural Research [Internet]. 2016 [citado 2018 Ago 03]; 55(5): 413-421. Disponible en: DOI: 10.1080 / 00218839.2016.1260239.
15. Ortega-Valle P, Obando-Urbina O. Utilización de la Resina de Neem (*Azadirachta indica*) como desparasitante externo en el tratamiento del tórsalo (*Dermatobia hominis*) en bovinos del Municipio de Muy. [Tesis de Grado]. Managua, Nicaragua. Universidad Nacional Agraria, 2006. 57 pp. Disponible en: <http://repositorio.una.edu.ni/1334/1/tnl73O77u.pdf>
 16. Berenguer C, Alfonso A, Salas H, Puente E, Betancourt J, Mora Y. Toxicidad aguda oral de *Azadirachta indica* (árbol del Nim). Rev Cubana Plant Med [Internet]. 2013 [citado 2018 Ago 03]; 18(3): 502-507. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962013000300017&lng=es.
 17. Carretero-Peláez M, Esparza-Gómez G, Figuero-Ruiz E, Cerero-Lapiedra R. Colutorios con alcohol y su relación con el cáncer oral: Análisis crítico de la literatura. Med. oral patol. oral cir. bucal (Ed.impr.) [Internet]. 2004 Abr [citado 2018 Ago 16]; 9(2): 116-123. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1698-44472004000200003&lng=es.
 18. Velasco T, Pizarro G. Variación del pH salival al usar colutorio con y sin alcohol en el personal de la Fuerza Aérea del Perú, Iquitos-2016. [Tesis de Título]. Iquitos, Perú. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, 2016. 74 pp. Disponible
 19. Jáuregui-Álvarez G. Efecto Antibacteriano in vitro del colutorio a base de *Matricaria chamomilla* (Manzanilla) a diferentes concentraciones sobre la cepa ATCC 2652263 de *Streptococcus mutans*. [Tesis de Grado]. Trujillo, Perú. Universidad Nacional de Trujillo, 2013. 60 pp. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/592>
 20. Padilla-Fernández E. Formulación y control de calidad de un enjuague bucal elaborado a partir de los extractos totales de *Matricaria recutita* L. (Manzanilla) y de *Salvia officinalis* L. (Salvia). [Tesis de Título]. Quito, Ecuador. Universidad

- Central del Ecuador. 2015. 160 pp. Disponible en: URI <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/6321>
21. León-Falcón M. Eficacia de las topificaciones con flúor gel en la prevención de caries dental en escolares de 7 años de edad del distrito de Ricardo Palma año 2001. [Tesis de Título]. Lima, Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2002. 67 pp. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/1129/Leon_fa.pdf?sequence=1&isAllowed=y
22. Cole ER, de Andrade JP, Filho JFA, Schmitt EFP, Alves-Araújo A, Bastida J, Endringer DC, de S Borges W, Lacerda V Jr. Cytotoxic and genotoxic activities of alkaloids from the bulbs of *Griffinia gardneriana* and *Habranthus itaobinus* (Amaryllidaceae). *Anticancer Agents Med Chem*. 2019 Jan 18. doi: 10.2174/1871520619666190118122523.
23. Sitarek P, Synowiec E, Kowalczyk T, Śliwiński T, Skąła E. An In Vitro Estimation of the Cytotoxicity and Genotoxicity of Root Extract from *Leonurus sibiricus* L. Overexpressing AtPAP1 against Different Cancer Cell Lines. *Molecules*. 2018 Aug 16;23(8). pii: E2049. doi: 10.3390/molecules23082049.
24. Jin L, Lamster I, Greenspan J, Pitts N, Scully C, Warnakulasuriya S. Carga global de las enfermedades orales: conceptos emergentes, manejo e interacción con la salud sistémica. *Oral Diseases*, 2016: 22 (7), 609–619. doi: 10.1111 / odi.12428
25. Padilla-Fernández E. Formulación y control de calidad de un enjuague bucal elaborado a partir de los extractos totales de *Matricaria recutita* L. (Manzanilla) y de *Salvia officinalis* L. (Salvia). [Tesis de Título]. Quito, Ecuador. Universidad Central del Ecuador. 2015. 160 pp. Disponible en: URI <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/6321>
26. Camacho-Huerta C. Innovación de un Método Analítico para la Cuantificación de Taninos en una Formulación Magistral para un Enjuague Bucal de Extracto de Encino. [Tesis de Título]. México D.F., México. Universidad Nacional Autónoma de México. 2012. 101 pp. Disponible en: https://www.zaragoza.unam.mx/portal/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/qfb/tesis/tesis_camacho_huerta.pdf

27. Loja Montoya, Madeleine. Efecto Antibacteriano in Vitro De Un Colutorio Elaborado Con Extracto Alcohólico De Rosmarinus Officinalis L. (romero) Sobre Streptococcus Mutans Y Enterococcus Faecalis. Universidad Señor de Sipán, 2017.
28. Prabhu M, Ruby S, Kavitha K, Manivasakan P, Rajendran V, Kulandaivelu P. In Vitro Bioactivity and Antimicrobial Tuning of Bioactive Glass Nanoparticles Added with Neem (*Azadirachta indica*) Leaf Powder. BioMed Research International [Internet]. Vol. 2014 [citado 2018 Ago 03]; Article ID 950691, 10 pp. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/950691>
29. Mistry K, Sanghvi Z, Parmar G, Shah S. The antimicrobial activity of *Azadirachta indica*, *Mimusops elengi*, *Tinospora cardifolia*, *Ocimum sanctum* and 2% chlorhexidine gluconate on common endodontic pathogens: An in vitro study. Eur J Dent [Internet]. 2014 [citado 2018 Ago 03]; 8:172-7. Disponible en: DOI: 10.4103/1305-7456.130591
30. Dutta A, Kundabala M. Antimicrobial efficacy of endodontic irrigants from *Azadirachta indica*: An in vitro study. Acta Odontológica Scandinavica [Internet]. 2013 [citado 2018 Ago 03]; Early Online, 1–5. Disponible en: DOI: 10.3109/00016357.2013.780290
31. Babaji P, Jagtap K, Lau H, Bansal N, Thajuraj S, Sondhi P. Comparative evaluation of antimicrobial effect of herbal root canal irrigants (*Morinda citrifolia*, *Azadirachta indica*, *Aloe vera*) with sodium hypochlorite: An in vitro study. J Int Soc Prevent Communit Dent [Internet]. 2016 [citado 2018 Ago 03]; 6:196-9. Disponible en: 10.4103/2231-0762.183104
32. Enrile F, Santos-Aleman A. Colutorios para el control de placa y gingivitis basados en la evidencia científica. RCOE [Internet]. 2005 Ago [citado 2018 Ago 02]; 10(4): 445-452. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1138123X200500040006&lng=es.
33. Aguilera M, Romano E, Ramos N, Rojas L. Sensibilidad del *Streptococcus mutans* a tres enjuagues bucales comerciales (Estudio in vitro). Odous Científica [Internet]. 2011 [citado 2018 Ago 02]; 12(1): 7-13. Disponible en: <http://servicio.bc.uc.edu.ve/odontologia/revista/vol12-n1/art1.pdf>

34. Jain I, Jain P, Bisht D, Sharma A, Srivastava B, Gupta N. Use of traditional Indian plants in the inhibition of caries-causing bacteria--*Streptococcus mutans*. *Braz Dent J*. [Internet] 2015 [citado 17 jul 2018]; 26(2):110-5. Disponible en doi: 10.1590/0103-6440201300102.
35. Sharma R, Hebbal M, Ankola AV, Murugaboopathy V, Shetty SJ. Effect of two herbal mouthwashes on gingival health of school children. *J Tradit Complement Med*. [Internet] 2014 [citado 17 jul 2018]; 4(4):272-8. Disponible en doi: 10.4103/2225-4110.131373.
36. Chatterjee A, Saluja M, Singh N, Kandwal A. To evaluate the antigingivitis and antipalque effect of an *Azadirachta indica* (neem) mouthrinse on plaque induced gingivitis: A double-blind, randomized, controlled trial. *J Indian Soc Periodontol*. [Internet]. 2011 [citado 17 jul 2018]; 15(4):398-401. Disponible en doi: 10.4103/0972-124X.92578.
37. Pai M, Acharya L, Udupa N. Evaluation of antiplaque activity of *Azadirachta indica* leaf extract gel--a 6-week clinical study. *J Ethnopharmacol*. [Internet]. 2004 [citado 17 jul 2018]; 90(1):99-103. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14698516>
38. Vanka A, Tandon S, Rao SR, Udupa N, Ramkumar P. The effect of indigenous *Neem Azadirachta indica* mouth washes on *Streptococcus mutans* and *lactobacilli* growth. *Indian J Dent Res*. [Internet]. 2001 [citado 17 jul 2018]; 12(3): 133-44. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11808064>
39. Moreno S, Herrera H, Crescente O, Vallera H, Moreno M, Mundaray R, Materano Y. Evaluación fitoquímica y actividad antibacteriana de los extractos de *Ipomoea quamoclit* L. (convulvaceae). *Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente* [en línea] 2007, [Citado 2 ago 2018]; 19(2): 205-209 Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=427739433011>
40. Gupta S, Prasad S, Tyagi A, Kunnumakkar A, Aggarwal B. *Neem (Azadirachta indica)*: An indian traditional panacea with modern molecular basis. *Phytomedicine*. [Internet]. 2017 [citado 17 jul 2018]; 34(1): 14–20. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2017.07.001>

41. Guerra-Boone L. Evaluación de la actividad antimicrobiana y antioxidante de aceites esenciales de plantas usadas en medicina tradicional. [Tesis de Maestría]. Nuevo León, México. Universidad Autónoma de Nuevo León, 2011. 120 pp. Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/id/eprint/2455>
42. Cruz F, Del Angel S. El Árbol de Nim, Establecimiento y Aprovechamiento en la Huasteca Potosina. INIFAP-CIRNE. Campo Experimental Huichihuayán y Campo Experimental Ébano. Folleto Técnico Núm. 3. [Internet]. 2004 [citado 17 jul 2018]; San Luis Potosí, México. 23 pp. Disponible en: <http://www.campopotosino.gob.mx/modulos/Docsdescargar/FOLL.%20TEC.%200003.pdf>
43. Gao Q, Sun J, Xun H, Yao X, Wang J, Tang F. A new Azadirachta from the crude extracts of neem (Azadirachta Indica A. Juss) seeds, Natural Product Research [Internet]. 2017 [citado 2018 Ago 03]. Disponible en: DOI: 10.1080/14786419.2017.1290616
44. Nile A, Nile S, Keum Y, Kim D, Venkidasamy B, Ramalingam S. Nematicidal potential and specific enzyme activity enhancement potential of neem (Azadirachta indica A. Juss.) aerial parts. Environmental Science and Pollution Research [Internet]. 2017 [citado 2018 Ago 03]; Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0821-5>
45. Panda S, Mohanta Y, Padhi L, Park Y, Mohanta T, Bae H. Large Scale Screening of Ethnomedicinal Plants for Identification of Potential Antibacterial Compounds. Molecules [Internet]. 2016 [citado 2018 Ago 03]; 21:293. Disponible en: doi: 10.3390/molecules21030293
46. Mistry K, Sanghvi Z, Parmar G, Shah S. The antimicrobial activity of Azadirachta indica, Mimosa elengi, Tinospora cardifolia, Ocimum sanctum and 2% chlorhexidine gluconate on common endodontic pathogens: An in vitro study. Eur J Dent [Internet]. 2014 [citado 2018 Ago 03]; 8:172-7. Disponible en: DOI: 10.4103/1305-7456.130591
47. Shah S, Venkataraghavan K, Choudhary P, Mohammad S, Trivedi K. Evaluation of antimicrobial effect of azadirachtin plant extract (Soluneem™) on commonly found root canal pathogenic microorganisms (viz. Enterococcus faecalis) in primary teeth: A microbiological study. J Indian Soc Pedod Prev

- Dent [Internet]. 2016 [citado 2018 Ago 03]; 34:210-6. Disponible en: DOI: 10.4103/0970-4388.186741
48. Ravva S, Korn A. Effect of Neem (*Azadirachta indica*) on the Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in Dairy Manure. *Int. J. Environ. Res. Public Health* [Internet]. 2015 [citado 2018 Ago 03]; 12: 7794-7803. Disponible en: DOI:10.3390/ijerph120707794
49. Podar R, Kulkarni G, Dadu S, Singh S, Singh S. In vivo antimicrobial efficacy of 6% *Morinda citrifolia*, *Azadirachta indica*, and 3% sodium hypochlorite as root canal irrigants. *Eur J Dent* [Internet]. 2015 [citado 2018 Ago 03]; 9:529-34. Disponible en: DOI: 10.4103/1305-7456.172615
50. Sarkar P, Acharyya S, Banerjee A, Patra A, Thankamani K, Koley H, Bag P. Intracellular, biofilm-inhibitory and membrane damaging activities of nimbolide isolated from *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae) against meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Medical Microbiology* [Internet]. 2016 [citado 2018 Ago 03]; 65: 1205–1214. Disponible en: DOI 10.1099/jmm.0.000343
51. Rafe R. A review of five traditionally used anti-diabetic plants of Bangladesh and their pharmacological activities. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* [Internet]. 2017 [citado 2018 Ago 03]; 10(10): 933–939. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.09.002>
52. Harjai K, Bala A, Gupta R, Sharma R. Leaf extract of *Azadirachta indica* (neem): a potential antibiofilm agent for *Pseudomonas aeruginosa*. *Pathogens and Disease* [Internet]. 2013 [citado 2018 Ago 03]; 62(69): 62–65. Disponible en: DOI:10.1111/2049-632X.12050
53. Bharitkar Y, Bathini S, Ojha D, Ghosh S, Mukherjee H, Kuotsu K, Chattopadhyay D, Mondal N. Antibacterial and antiviral evaluation of sulfonoquinovosyldiacylglyceride: a glycolipid isolated from *Azadirachta indica* leaves. *Letters in Applied Microbiology* [Internet]. 2013 [citado 2018 Ago 03]; 58:184-189. Disponible en: DOI:10.1111/lam.12174
54. Dahiya N, Chianese G, Abay S, Taglialatela-Scafati O, Esposito F, Lupidi G, Bramucci M, Quassinti L, Christophides G, Habluetzel A, Lucantoni L, In vitro

and ex vivo activity of an *Azadirachta indica* A.Juss. seed kernel extract on early sporogonic development of *Plasmodium* in comparison with azadirachtin A, its most abundant constituent. *Phytomedicine* [Internet]. 2016 [citado 2018 Ago 03]; Disponible en: DOI:10.1016/j.phymed.2016.10.019

55. Prado Oeste A. Viceministerio de gestión ambiental dirección general de calidad ambiental [Internet]. Available from: https://www.minam.gob.pe/calidadambiental/wp-content/uploads/sites/22/2013/10/guia_riesgos_ambientales.pdf

ANEXOS

Anexo 1: Matriz de consistencia

Nombre y apellidos: CINTHIA ELIZABETH MANAYALLE NOLE

Título del proyecto de tesis: EFECTO ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE *Azadirachta indica* (NEEM) SOBRE *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

PREGUNTA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	TIPO/DISEÑO	POBLACIÓN /MUESTRA	INSTRUMENTO
<p>¿Existe efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de <i>Azadirachta indica</i> (neem) sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212?</p>	<p>Objetivo General Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de <i>Azadirachta indica</i> (neem) sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212.</p> <p>Objetivos Específicos</p> <ol style="list-style-type: none"> Determinar el efecto antibacteriano de 10 concentraciones del extracto hidroetanólico de las hojas de <i>Azadirachta indica</i> (neem) sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212. Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto hidroetanólico de <i>Azadirachta indica</i> (neem) sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212. Determinar la concentración mínima bactericida (CMB) del extracto hidroetanólico de <i>Azadirachta indica</i> (neem) sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212. 	<p>Existe el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de <i>Azadirachta indica</i> (neem) sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 es de tipo bactericida.</p> <p>No existe el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de <i>Azadirachta indica</i> (neem) sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 es de tipo bactericida.</p>	<p>Tipo: Cuantitativa</p> <p>Diseño: Experimental con estímulo creciente. Con posprueba y grupos controles.</p>	<p>Población: Cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212</p> <p>Hojas de <i>Azadirachta indica</i> (neem)</p> <p>Muestra: Inóculo de <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 equivalentes a 1,5x10⁸ UFC/mL.</p> <p>Concentración de 800, 900 y 1000 µg/mL del extracto total de <i>Azadirachta indica</i> (neem).</p>	<p>Microscopio.</p> <p>Contador de Colonias.</p> <p>Vernier milimétrico.</p> <p>Medios de cultivo.</p> <p>Ficha de recolección de datos.</p>

Anexo 2. Identificación taxonómica de la planta *Azadirachta indica*



HERBARIUM PIURENSE
Universidad Nacional de Piura

Constancia N° 004-2019

El que suscribe, Dr. J. Manuel Charcape Ravelo, docente del Departamento de Ciencias Biológicas de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Piura, Director de la Unidad de Investigación de la Facultad de Ciencias y Director del Herbarium Piurense, deja

CONSTANCIA

Que la Sra. Cinthia Elizabeth Manayalle Nole, estudiante del 10^{mo} ciclo de la Escuela de Estomatología de la Universidad Señor de Sipán-Chiclayo, identificada con DNI N° 47578992, con domicilio legal en la ciudad de Chiclayo. Alcanzó una muestra botánica a este despacho para ser determinada en esta institución, manifestando que es para la realización de su tesis titulada: Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroetanólico de *Azadirachta indica* (NEEM) SOBRE *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. La muestra examinada resultó ser: ***Azadirachta indica* Jussieu 1830 MELIACEAE "neem"**.

División: Angiospermae

Clase: Equisetopsida

Orden: Sapindales

Familia: Meliaceae

Género: *Azadirachta*

Especie: *A. indica* Jussieu 1830 MELIACEAE "neem"

Se le expide esta constancia a solicitud de la interesada para los fines de realización de su tesis.

Piura, 18 de junio del 2019



J. Manuel Charcape Ravelo
Manuel Charcape Ravelo

c.c. Herbarium Piurense.

<https://www.facebook.com/Herbarium.piurense>

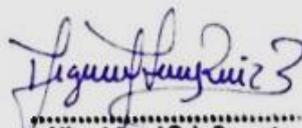
Anexo 3. Solicitud de acceso al laboratorio para prueba piloto.

CONSTANCIA

El que suscribe, hace constar que ha colaborado con la recolección de datos de la prueba piloto de la investigación titulada: **EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE *Azadirachta indica* (NEEM) SOBRE *Enterococcus faecalis* ATCC 29212**, de la Srta. **Cinthia Elizabeth Manayalle Nole** identificada con **DNI N° 47578992** estudiante de Estomatología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Señor de Sipán. La prueba piloto fue realizada los días 29, 30 y 31 de mayo del 2019.

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

Piura, 30 de mayo de 2019.


Miguel Angel Ruiz Barrueto
BIÓLOGO
C.B.P. 8256

Anexo 4. Procedimiento de recolección de datos

Obtención de los extractos:

1. Selección y secado de material vegetal:



2. Molienda del material vegetal seco

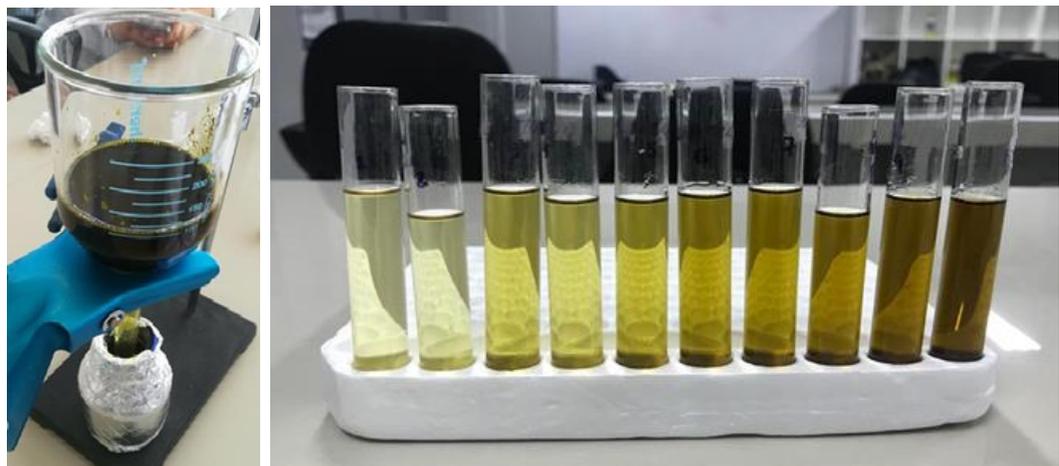


3. Preparación del sistema para obtención del extracto.

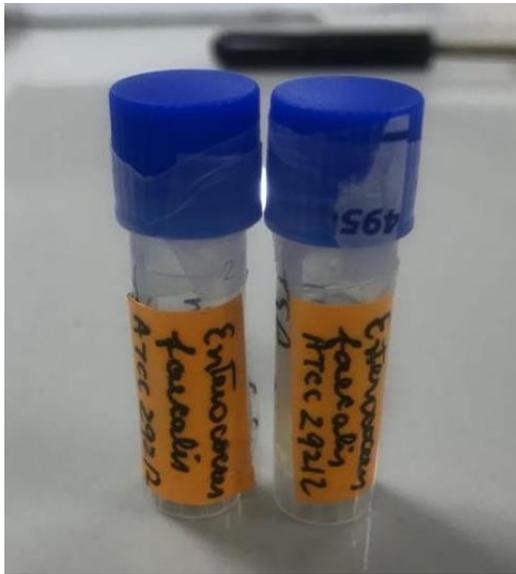
Obtención del extracto hidroetanólico



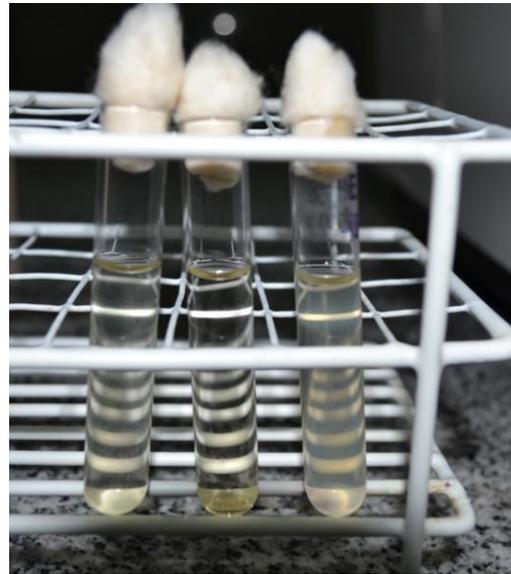
Obtención de las diferentes concentraciones del extracto de Neem



4. Estandarización del inóculo de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.



Cepa certificada



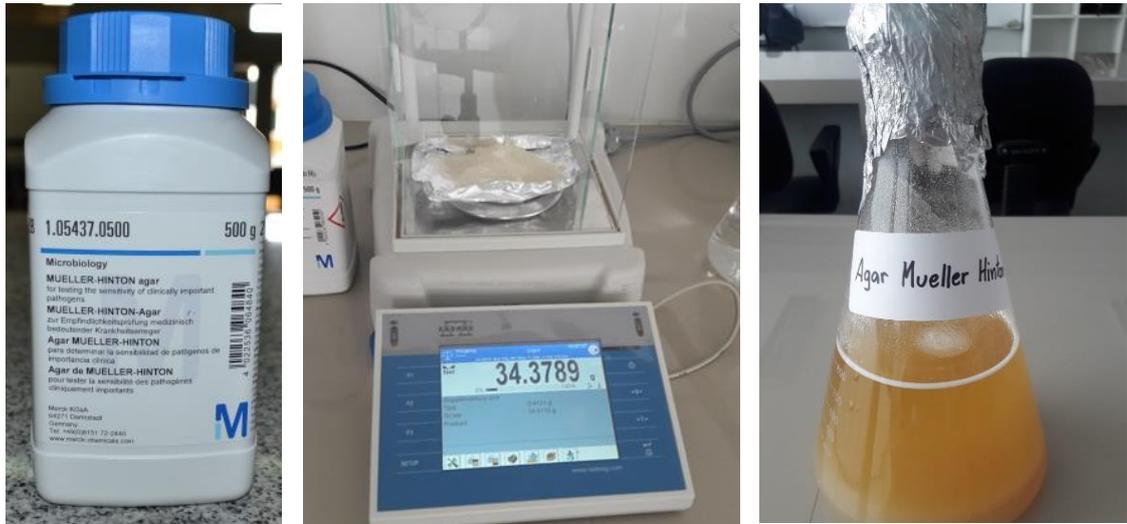
Inóculo en suspensión



Estandarización en espectrofotómetro

5. Preparación de medios de cultivo

Pesaje y dilución del Agar Mueller – Hinton



Medio de cultivo Mueller-Hinton esterilizado en autoclave



Servida de medios de cultivo

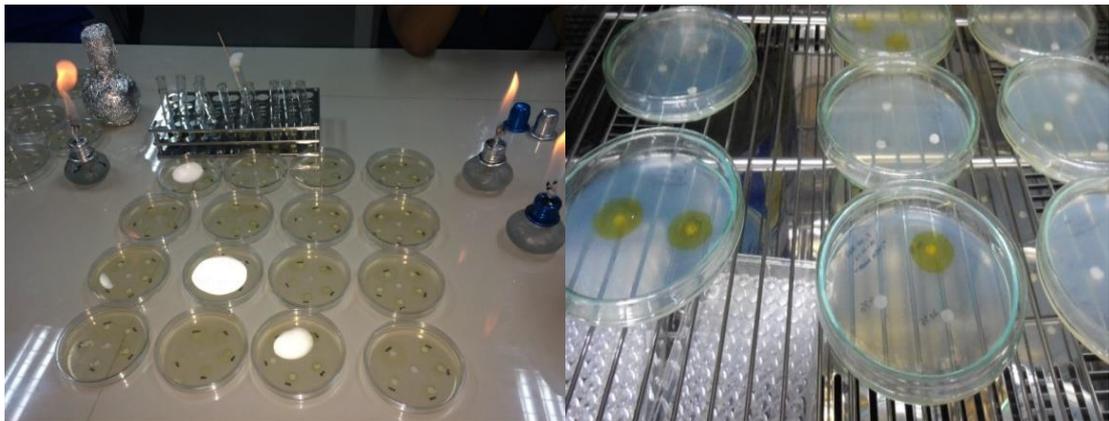


6. Evaluación antimicrobiana

Sembrado de bacteria e incorporación de extractos vegetales



Placas sembradas y en incubación.



Anexo 5. Ficha de recolección de datos

DIÁMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN mm					
ENSAYOS	CONTROLES		CONCENTRACIONES EXTRACTO		
	Clorhexidina 2%	SSFE	800 µg/mL	900 µg/mL	1000 µg/mL
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					


Miguel Angel Ruiz Barreto
BIÓLOGO
C.B.P. 8256

Anexo 6. Resultados de prueba

Tabla 1. Promedios de diámetros de halos de inhibición de 20 concentraciones del extracto hidroetanólico de hojas de *Azadirachta indica* (neem) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Control +	Control -	Extracto hidroetanólico <i>Azadirachta indica</i> (neem)		
Clorhexidina 2%	SSFE C-	800 µg/mL	900 µg/mL	1000 µg/mL
15	0	18.2	19.5	21.8
16	0	18	20	22
15	0	17.9	18.9	23
14.5	0	16.8	19.9	21
15	0	19	19.2	22
15	0	17.4	18.2	22.4
15	0	17.6	20.1	23
16	0	16.5	19.4	23
15	0	18.2	19.3	23
15	0	18.6	18.7	21
15	0	17.2	18.8	21
16	0	18.7	20.6	21
15.5	0	16.4	19	21
16.5	0	17.7	19.5	22.5
15	0	18	19.9	21.9
16	0	18.1	19.2	21.8
15	0	18.6	18.2	20.5
15	0	17.2	20.1	21
16	0	18.7	19.4	19.8
15.5	0	16.4	19.3	21
15.4	0	17.8	19.4	21.7

*Solución salina fisiológica estéril

Anexo 7. Análisis estadístico de datos

ONEWAY HALO_INHIBICIÓN BY EXTRACTO_NEEM/STATISTICS DESCRIPTIVES
 HOMOGENEITY/PLOT MEANS/MISSING ANALYSIS/POSTHOC = TUKEY DUNCAN
 SCHEFFE ALPHA (0.05).

Unidireccional

Descriptivos								
Halo de inhibición en mm de Enterococcus faecalis ATCC 29212								
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Clorhexidina 2% C+	20	15,350	,5405	,1209	15,097	15,603	14,5	16,5
SSFE C-	20	,000	,0000	,0000	,000	,000	,0	,0
800 µg/mL NEEM	20	17,760	,8062	,1803	17,383	18,137	16,4	19,0
900 µg/mL NEEM	20	19,360	,6286	,1406	19,066	19,654	18,2	20,6
1000 µg/mL NEEM	20	21,685	,9349	,2090	21,247	22,123	19,8	23,0
Total	100	14,831	7,7642	,7764	13,290	16,372	,0	23,0

Prueba de homogeneidad de varianzas			
Halo de inhibición en mm de Enterococcus faecalis ATCC 29212			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
14,428	4	95	,000

ANOVA					
Halo de inhibición en mm de Enterococcus faecalis ATCC 29212					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	5925,922	4	1481,481	3350,051	,000
Dentro de grupos	42,012	95	,442		
Total	5967,934	99			

Pruebas post hoc (Duncan)

Comparaciones múltiples								
Variable dependiente: Halo de inhibición en mm de Enterococcus faecalis ATCC 29212								
(I) Extracto hidroetanólico de Azadirachta indica (neem)		(J) Extracto hidroetanólico de Azadirachta indica (neem)	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza		
						Límite inferior	Límite superior	
HSD Tukey	Clorhexidina 2% C+	SSFE C-	15,3500*	,2103	,000	14,765	15,935	
		800 µg/mL NEEM	-2,4100*	,2103	,000	-2,995	-1,825	
		900 µg/mL NEEM	-4,0100*	,2103	,000	-4,595	-3,425	
		1000 µg/mL NEEM	-6,3350*	,2103	,000	-6,920	-5,750	
	SSFE C-	Clorhexidina 2% C+	-15,3500*	,2103	,000	-15,935	-14,765	
		800 µg/mL NEEM	-17,7600*	,2103	,000	-18,345	-17,175	
		900 µg/mL NEEM	-19,3600*	,2103	,000	-19,945	-18,775	
		1000 µg/mL NEEM	-21,6850*	,2103	,000	-22,270	-21,100	
	800 µg/mL NEEM	Clorhexidina 2% C+	2,4100*	,2103	,000	1,825	2,995	
		SSFE C-	17,7600*	,2103	,000	17,175	18,345	
		900 µg/mL NEEM	-1,6000*	,2103	,000	-2,185	-1,015	
		1000 µg/mL NEEM	-3,9250*	,2103	,000	-4,510	-3,340	
			Clorhexidina 2% C+	4,0100*	,2103	,000	3,425	4,595

Scheffe	900 µg/mL NEEM	SSFE C-	19,3600*	,2103	,000	18,775	19,945
		800 µg/mL NEEM	1,6000*	,2103	,000	1,015	2,185
		1000 µg/mL NEEM	-2,3250*	,2103	,000	-2,910	-1,740
	1000 µg/mL NEEM	Clorhexidina 2% C+	6,3350*	,2103	,000	5,750	6,920
		SSFE C-	21,6850*	,2103	,000	21,100	22,270
		800 µg/mL NEEM	3,9250*	,2103	,000	3,340	4,510
		900 µg/mL NEEM	2,3250*	,2103	,000	1,740	2,910
	Clorhexidina 2% C+	SSFE C-	15,3500*	,2103	,000	14,689	16,011
		800 µg/mL NEEM	-2,4100*	,2103	,000	-3,071	-1,749
		900 µg/mL NEEM	-4,0100*	,2103	,000	-4,671	-3,349
	SSFE C-	1000 µg/mL NEEM	-6,3350*	,2103	,000	-6,996	-5,674
		Clorhexidina 2% C+	-15,3500*	,2103	,000	-16,011	-14,689
		800 µg/mL NEEM	-17,7600*	,2103	,000	-18,421	-17,099
	800 µg/mL NEEM	900 µg/mL NEEM	-19,3600*	,2103	,000	-20,021	-18,699
		1000 µg/mL NEEM	-21,6850*	,2103	,000	-22,346	-21,024
Clorhexidina 2% C+		2,4100*	,2103	,000	1,749	3,071	
900 µg/mL NEEM	SSFE C-	17,7600*	,2103	,000	17,099	18,421	
	900 µg/mL NEEM	-1,6000*	,2103	,000	-2,261	-,939	
	1000 µg/mL NEEM	-3,9250*	,2103	,000	-4,586	-3,264	
1000 µg/mL NEEM	Clorhexidina 2% C+	4,0100*	,2103	,000	3,349	4,671	
	SSFE C-	19,3600*	,2103	,000	18,699	20,021	
	800 µg/mL NEEM	1,6000*	,2103	,000	,939	2,261	
	1000 µg/mL NEEM	-2,3250*	,2103	,000	-2,986	-1,664	
900 µg/mL NEEM	Clorhexidina 2% C+	6,3350*	,2103	,000	5,674	6,996	
	SSFE C-	21,6850*	,2103	,000	21,024	22,346	
	800 µg/mL NEEM	3,9250*	,2103	,000	3,264	4,586	
	900 µg/mL NEEM	2,3250*	,2103	,000	1,664	2,986	

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Subconjuntos homogéneos

Halo de inhibición en mm de <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212							
Extracto hidroetanólico de <i>Azadirachta indica</i> (neem)		N	Subconjunto para alfa = 0.05				
			1	2	3	4	5
HSD Tukey ^a	SSFE C-	20	,000				
	Clorhexidina 2% C+	20		15,350			
	800 µg/mL NEEM	20			17,760		
	900 µg/mL NEEM	20				19,360	
	1000 µg/mL NEEM	20					21,685
	Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Duncan ^a	SSFE C-	20	,000				
	Clorhexidina 2% C+	20		15,350			
	800 µg/mL NEEM	20			17,760		
	900 µg/mL NEEM	20				19,360	
	1000 µg/mL NEEM	20					21,685
	Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Scheffe ^a	SSFE C-	20	,000				
	Clorhexidina 2% C+	20		15,350			
	800 µg/mL NEEM	20			17,760		
	900 µg/mL NEEM	20				19,360	
	1000 µg/mL NEEM	20					21,685
	Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 20.000.

Gráficos de medias

