

Universidad Católica de Santa María
Facultad de Odontología
Segunda Especialidad en Periodoncia e Implantología



EFICACIA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE COCA, DE LA SANGRE DE GRADO Y DEL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA EN EL DIÁMETRO DEL HALO INHIBITORIO DE LAS CEPAS CERTIFICADAS DE PORPHYROMONAS GINGIVALIS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA. UCSM. 2017

Tesis presentada por la Cirujano Dentista
Alarcón Quispe, Mayra Lizbeth

Para optar el Título de **Segunda Especialidad en Periodoncia e Implantología**

Asesor:

Dr. Anaya Muñoz Luis Alfredo

Arequipa – Perú

2022

DICTAMEN APROBATORIO

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA
SEGUNDA ESPECIALIDAD EN PERIODONCIA E IMPLANTOLOGIA
SEGUNDA ESPECIALIDAD CON TESIS
DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 02 de Diciembre del 2021

Dictamen: 002115-C-FAO-2021

Visto el borrador del expediente 002115, presentado por:

2014972202 - ALARCON QUISPE MAYRA LIZBETH

Titulado:

**EFICACIA DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE COCA Y SANGRE DE GRADO Y DEL
GLUCONATO DE CLORHEXIDINA EN EL DIAMETRO DEL HALO INHIBITORIO DE LAS CEPAS
CERTIFICADAS DE PORPHYROMONA GINGIVALIS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA.
UCSM. 2017**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

**0349 - GALLEGOS VARGAS HERBERT MARIO
DICTAMINADOR**

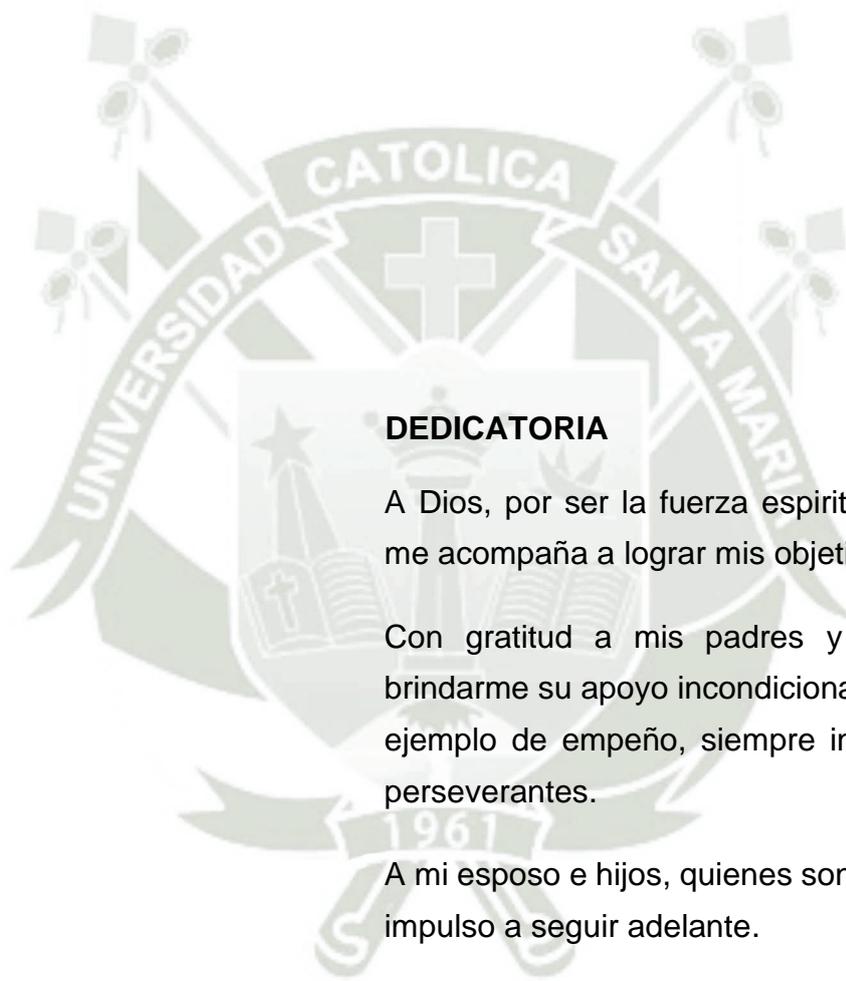


**1981 - PORTILLA MIRANDA SEREY DORIS
DICTAMINADOR**



**2085 - ROJAS VALENZUELA CHRISTIAN VICENTE
DICTAMINADOR**



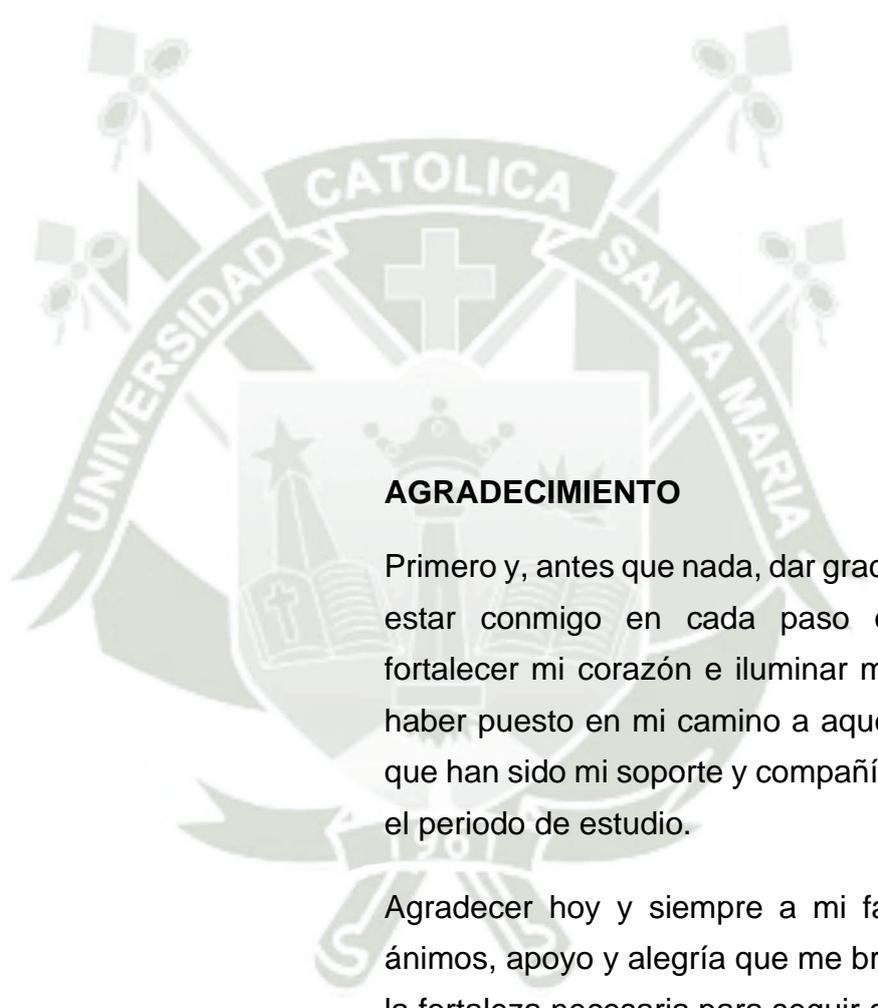


DEDICATORIA

A Dios, por ser la fuerza espiritual que siempre me acompaña a lograr mis objetivos.

Con gratitud a mis padres y hermanos, por brindarme su apoyo incondicional gracias por ser ejemplo de empeño, siempre inculcarnos a ser perseverantes.

A mi esposo e hijos, quienes son mi inspiración e impulso a seguir adelante.



AGRADECIMIENTO

Primero y, antes que nada, dar gracias a Dios, por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

Agradecer hoy y siempre a mi familia, por los ánimos, apoyo y alegría que me brindan; me dan la fortaleza necesaria para seguir adelante.

RESUMEN

Esta investigación tiene por objeto evaluar la eficacia del extracto hidroalcohólico de coca, sangre de grado y del gluconato de clorhexidina en el diámetro del halo inhibitorio de las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*.

Corresponde a un ensayo laboratorios randomizado con cegamiento simple de la investigación, sin pretest y con postest único a los 15 días. La variable de interés, diámetro del halo inhibitorio fue estudiada a través de la técnica de observación experimental microbiológica in vitro por medio del método de susceptibilidad en discos de Kirby-Baner que determinó la sensibilidad de la *Porphyromona gingivalis* frente al extracto hidroalcohólico de coca al 25%, 50% y 100%, la sangre de grado al 100%, el gluconato de clorhexidina al 0.12% como control positivo y el bicarbonato de sodio, como control negativo en 5 réplicas por fármacos. Con tal objeto se sembró una cantidad estandarizada de *Porphyromona gingivalis* en una placa de agar Müller-Hilton. Luego se practicó la aplicación de los estímulos mencionados y filtros al agar en forma radial. Posteriormente la placa fue incubada a 37°C durante 15 días; al cabo de lo cual se midió los halos de inhibición desarrollados, calificando la susceptibilidad de la bacteria de acuerdo a la siguiente escala: resistente (0 a 6 mm), poco sensible (7 a 14 mm), sensible (15 a 21 mm); y, muy sensible (22 mm a más). El diámetro del halo inhibitorio fue tratado estadísticamente mediante tendencia central y dispersión la caracterización y el valor establecido, mediante frecuencias. La prueba utilizada fue ANOVA de una vía.

Los resultados mostraron que la *Porphyromona gingivalis* fue muy sensible al gluconato de clorhexidina al 0.12%; sensible al extracto hidroalcohólico de coca al 100%; poco sensible a este componente al 50%; y, resistente al extracto de coca al 25%, a la sangre de grado y al bicarbonato de sodio, como control negativo. ANOVA indica haber diferencia estadística significativa en el efecto de los componentes mencionados en el diámetro del halo inhibitorio de las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*.

Palabras Clave: Coca – Sangre de grado – Clorhexidina – Halo inhibitorio - *Porphyromona gingivalis*.

ABSTRACT

This research has the aim to evaluate the efficacy of hidroalcoholic coque extract, drago's blood, chlorhexidine gluconate on the diameter of inhibitory of certificated stump of gingival porphyromone.

It is a randomized laboratorial trial with simple blind of researcher, without pretest and a single posttest at 15 days. The variable of interest, diameter of inhibitory was studied through experimental microbiological observation technique in vitro across the susceptibility method in disks of Kirby-Baner, that determined the sensibility of gingival porphyromone to the hidroalcoholic coque extract at 25%, 50% and 100%, drago's blood at 100%, chlorhexidine gluconate at 0.12%, as positive for each treatment control, and sodium bicarbonate as negative control. So a standardized cantity of gingival porphyromone was saw onto a Miller-Hilton's agar plaque. Then the mentioned estimulations and radial filtres were set onto agar. Then the plaque was incubed at 37°C during 15 days. Finally, developed inhibitory were measured, considering the bacteria susceptibility according to the following scales resistant (0 to 6 mm), low sensible (7 to 14 mm), sensible (15 to 21 mm), and very sensible (22 mm to more). The diameter of inhibitory was treated stastically through central tendence and dispertion; the characterization and stablished value through frequencies. The test used was one-way ANOVA.

The results showed that gingival Porphyromona was very sensible to clorhexidin gluconate at 0.12%; sensible to hidroalcoholic extract of coque at 100%; a low sensible to this component at 50%; y, resistant to coque extract at 25%, to drago's blood, sodium bicarbonate, as negative control. ANOVA indicates that there is a significative statistic difference in the effect of the mentioned components on the diameter of inhibitory of certificated stump of gingival Porphyromona.

Keywords: Coque – Drago's blood – Clorhexidine – Inhibitory – Gingival Porphyromona.

INTRODUCCIÓN

La incesante búsqueda de un antimicrobiano que reduzca la flora periodontopatógena ha determinado que se dirija la mirada hacia ciertos productos naturales como el extracto de coca y la sangre de grado, a fin de analizar su efectividad contra la *Porphyromona gingivalis*, una de las bacterias más importantes en la etiología de la enfermedad periodontal.

La coca es una planta laseritroxilaceas que crece particularmente en la selva y andes amazónicos. Es una rica en carotenos, vitaminas C y B, minerales y varios alcaloides como la cocaína. Tiene efectos analgésicos, alcalinizante, antiinflamatorio y neuroestimulante, por lo que su uso es muy difundido en nuestra serranía.

La sangre de grado es un látex obtenido del árbol *crotón lechlerii* que crece en la Amazonía sudamericana. Tiene un principio activo denominado Taspina que tiene efecto antiinflamatorio, antihemorrágico y cicatrizante. La sangre de grado contiene también varía alcaloides, además de la tapsina, así como ácido benzoico, pigmentos, taninos y otros compuestos. Basa su acción cicatrizante en que promueve activamente la migración fibroblástica generando células jóvenes procedentes del mesenquima, interviniendo también en la formación de sustancia intercelular del tejido conjuntivo.

La clorhexidina es un antiséptico bisguanídico de naturaleza dicatiónica, que la torna extremadamente interactiva con los aniones, lo que influye en su eficacia, seguridad, incluso en sus efectos colaterales. No obstante, este antiséptico se liga fuertemente a la membrana plasmática bacteriana, dando lugar un aumento en la permeabilidad de la membrana bacteriana, con pérdida de componentes intracelulares, incluido el potasio, lo que explica su acción antibacteriana. Tiene acción antiplaca y posee una gran sustentividad o efecto de depósito en los tejidos orales.

La *Porphyroma gingivalis* es un bacilo gramnegativo, anaerobio, no móvil, que muestra formas cocoideas o bacilares, que producen colágenasas, proteasas y otras enzimas que pueden inhibir la migración de la PMNS. Constituye el segundo patógeno en importancia, vinculado etiológicamente, a diferentes formas de periodontitis.

Por las razones expuestas se ha considerado pertinente estudiar la eficacia del extracto hidroalcohólico de coca, la sangre de grado y del gluconato de clorhexidina en el diámetro del halo inhibitorio de la *Porphyromona gingivalis*, a fin de determinar la susceptibilidad de esta bacteria a los compuestos antes mencionados.



ÍNDICE

DICTAMEN APROBATORIO

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO TEÓRICO	1
1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	2
1.1. Determinación del problema	2
1.2. Enunciado	4
1.3. Descripción del problema:.....	4
1.4. Justificación.....	5
2. OBJETIVOS.....	6
3. MARCO TEÓRICO	7
3.1. Conceptos básicos.....	7
3.1.1. Hoja de coca	7
a. Definición	7
b. Antecedentes históricos.....	7
c. Aspecto medicinal.....	9
d. Aspecto nutricional.....	10
e. Efectos.....	10
f. Composición Química de la Coca.....	12
g. Propiedades Nutricionales de la Hoja de Coca.....	12
3.1.2. Sangre de grado	13
a. Antecedentes	13
b. Identificación taxonómica de la especie.....	15
c. Procedencia.....	15

d. Propiedades.....	15
e. Propiedades medicinales.....	16
f. Aspectos Farmacológicos.....	17
3.1.3. Clorhexidina.....	18
a. Concepto.....	18
b. Composición.....	18
c. Mecanismo de Acción.....	19
d. Reacciones Adversas.....	19
e. Concentraciones.....	19
f. Indicaciones y Dosificación.....	19
g. Contraindicaciones.....	20
h. Interacciones.....	20
3.1.4. <i>Porphyromona gingivalis</i>	20
a. Descripción.....	20
b. Taxonomía.....	21
c. Nutrición.....	22
d. Factores de virulencia.....	22
3.2. Análisis de antecedentes investigativos.....	24
4. HIPÓTESIS.....	30
CAPÍTULO II: PLANTEAMIENTO OPERACIONAL.....	31
1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN.....	32
1.1. Técnica.....	32
1.2. Instrumentos.....	37
1.3. Materiales de verificación.....	38
2. CAMPO DE VERIFICACIÓN.....	38
2.1. Ubicación espacial.....	38
2.2. Ubicación temporal.....	38
2.3. Unidades de estudio.....	39
3. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	41
3.1. Organización.....	41
3.2. Recursos.....	41
3.3. Prueba piloto.....	41

4. ESTRATEGIA PARA MANEJAR LOS RESULTADOS	42
4.1. Plan de procesamiento de los datos	42
4.2. Plan de análisis de datos	43
CAPÍTULO III: RESULTADOS	44
PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LOS DATOS.....	45
DISCUSIÓN	71
CONCLUSIONES	73
RECOMENDACIONES	74
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75
ANEXOS	80
ANEXO N° 1: MODELO DE FICHA DE OBSERVACIÓN EXPERIMENTAL	81
ANEXO N° 2: MATRICES	83
ANEXO N° 3: EVIDENCIA FOTOGRÁFICA	88

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA Nº 1	Eficacia del extracto hidroalcohólico de coca a diferentes concentraciones en el diámetro del halo inhibitorio de las cepas certificadas de <i>Porphyromona gingivalis</i>	45
TABLA Nº 2	Eficacia del extracto hidroalcohólico de coca a diferente concentración en la característica establecida del halo inhibitorio de las cepas certificadas de <i>Porphyromona gingivalis</i>	47
TABLA Nº 3	Eficacia del extracto hidroalcohólico de coca a diferente concentración en el valor establecido del halo inhibitorio de <i>Porphyromona gingivalis</i>	49
TABLA Nº 4	Eficacia de la sangre de grado al 100% en el diámetro del halo inhibitorio de las cepas certificadas de <i>Porphyromona gingivalis</i>	51
TABLA Nº 5	Eficacia de la sangre de grado al 100% en la característica establecida del halo inhibitorio para las cepas certificadas de <i>Porphyromona gingivalis</i>	53
TABLA Nº 6	Eficacia de la sangre de grado al 100% en el valor establecido del halo inhibitorio para las cepas certificadas de <i>Porphyromona gingivalis</i>	55
TABLA Nº 7	Eficacia del gluconato de clorhexidina al 0.12% en el diámetro del halo inhibitorio para las cepas certificadas de <i>Porphyromona gingivalis</i>	57
TABLA Nº 8	Eficacia de gluconato de clorhexidina al 0.12% en la característica establecida del halo inhibitorio para cepas	59
TABLA Nº 9	Eficacia del gluconato de clorhexidina al 0.12% en el valor establecido del halo inhibitorio para las cepas certificadas de <i>Porphyromona gingivalis</i>	61
TABLA Nº 10	Eficacia del bicarbonato de sodio en el diámetro del halo inhibitorio para las cepas certificadas de <i>Porphyromona gingivalis</i>	63
TABLA Nº 11	Eficacia del bicarbonato de sodio en la característica establecida del halo inhibitorio para las cepas certificadas de <i>Porphyromona gingivalis</i>	65
TABLA Nº 12	Eficacia del bicarbonato de sodio en el valor establecido del halo inhibitorio para las cepas certificadas de <i>Porphyromona gingivalis</i> .	67
TABLA Nº 13	Eficacia comparativa del extracto hidroalcohólico de coca a diferente concentración, de la sangre de grado, de la clorhexidina y del bicarbonato de sodio en el diámetro del halo inhibitorio para las cepas certificadas de <i>Porphyromona gingivalis</i>	69

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO Nº 1	Eficacia del extracto hidroalcohólico de coca a diferentes concentraciones en el diámetro del halo inhibitorio de las cepas certificadas de <i>Porphyromona gingivalis</i>	46
GRÁFICO Nº 2	Eficacia del extracto hidroalcohólico de coca a diferente concentración en la característica establecida del halo inhibitorio de las cepas certificadas de <i>Porphyromona gingivalis</i>	48
GRÁFICO Nº 3	Eficacia del extracto hidroalcohólico de coca a diferente concentración en el valor establecido del halo inhibitorio de <i>Porphyromona gingivalis</i>	50
GRÁFICO Nº 4	Eficacia de la sangre de grado al 100% en el diámetro del halo inhibitorio de las cepas certificadas de <i>Porphyromona gingivalis</i>	52
GRÁFICO Nº 5	Eficacia de la sangre de grado al 100% en la característica establecida del halo inhibitorio para las cepas certificadas de <i>Porphyromona gingivalis</i>	54
GRÁFICO Nº 6	Eficacia de la sangre de grado al 100% en el valor establecido del halo inhibitorio para las cepas certificadas de <i>Porphyromona gingivalis</i>	56
GRÁFICO Nº 7	Eficacia del gluconato de clorhexidina al 0.12% en el diámetro del halo inhibitorio para las cepas certificadas de <i>Porphyromona gingivalis</i>	58
GRÁFICO Nº 8	Eficacia de gluconato de clorhexidina al 0.12% en la característica establecida del halo inhibitorio para cepas.....	60
GRÁFICO Nº 9	Eficacia del gluconato de clorhexidina al 0.12% en el valor establecido del halo inhibitorio para las cepas certificadas de <i>Porphyromona gingivalis</i>	62
GRÁFICO Nº 10	Eficacia del bicarbonato de sodio en el diámetro del halo inhibitorio para las cepas certificadas de <i>Porphyromona gingivalis</i>	64
GRÁFICO Nº 11	Eficacia del bicarbonato de sodio en la característica establecida del halo inhibitorio para las cepas certificadas de <i>Porphyromona gingivalis</i>	66
GRÁFICO Nº 12	Eficacia del bicarbonato de sodio en el valor establecido del halo inhibitorio para las cepas certificadas de <i>Porphyromona gingivalis</i>	68
GRÁFICO Nº 13	Eficacia comparativa del extracto hidroalcohólico de coca a diferente concentración, de la sangre de grado, de la clorhexidina y del bicarbonato de sodio en el diámetro del halo inhibitorio para las cepas certificadas de <i>Porphyromona gingivalis</i>	70



CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO TEÓRICO

I. PLANTEAMIENTO TEÓRICO

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Determinación del problema

La caries dental y la enfermedad periodontal son las patologías orales con mayor prevalencia en la población a nivel mundial. En nuestro medio, la enfermedad periodontal alcanza a un 90.4% de la población. Es una patología de origen multifactorial, causada por un sobre crecimiento de bacterias periodonto patógenas en la placa subgingival, seguida de una respuesta inmuno inflamatoria en un huésped susceptible. Esta enfermedad no tratada o tratada inadecuadamente, es la principal causa de pérdida de piezas dentarias en el adulto.

La prevención y terapia para esta enfermedad, se enfoca directamente hacia la reducción de la placa bacteriana y el uso de antibióticos sistémicos solo indicado en cierto tipo de periodontitis. En los últimos tiempos se ha revalorado los efectos beneficiosos de las plantas, utilizándolas en la composición de diversos productos destinados al control de placa bacteriana, como cremas dentales y colutorios (1).

La hoja de coca (*Erythroxylum coca*) utilizada desde nuestros antepasados hasta la actualidad, tiene propiedades terapéuticas (antibacterianas, antiinflamatorias, anestésicas y coagulante) sustentadas en diversos estudios científicos. Las investigaciones realizadas en el área odontológica, demuestran que el extracto de hoja de coca tiene actividad antibacteriana in vitro frente a bacterias presentes en la cavidad oral.

En la enfermedad periodontal, existen bacterias periodonto patógenas, siendo las más representativas *Porphyromonas*, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Actinomices*, *Aggregatibacter*, etc., y los estudios demuestran que *Porphyromonas gingivalis* es la bacteria representativa de mayor prevalencia en la periodontitis crónica, motivo por el cual será objeto de estudio en esta investigación.

Se realiza entonces el presente estudio in vitro, mediante un Test de difusión en Agar y la prueba de dilución en medio líquido, con la intención de conocer la actividad antibacteriana del extracto de hoja de coca, sobre *Porphyromonas gingivales* (2).

La periodontitis es una enfermedad de alta prevalencia a nivel mundial y en nuestro medio alcanza a un 85% de la población. Es una enfermedad de etiología multifactorial, siendo el factor etiológico primario el agente microbiano. Uno de estos agentes más importantes es *Porphyromonas gingivalis*, especie bacteriana anaeróbica estricta, Gram negativo. A su vez, el uso de antibióticos sistémicos está indicado sólo en ciertos tipos de periodontitis, y no siempre el tratamiento es exitoso. Hoy en día, tanto en medicina general como odontológica, se está investigando nuevas alternativas de tratamientos antibacterianos, dado el continuo aumento de la resistencia bacteriana a los antibióticos convencionales y por las reacciones adversas que estos producen en algunos pacientes. El estudio investigó la actividad antibacteriana, in vitro, del extracto de la hoja de coca (*Erythroxylum coca*), sobre la cepa ATCC *Porphyromonas gingivalis*, mediante el test de difusión en Agar y la prueba de dilución en medio líquido. Los resultados del primer estudio indicaron que el extracto de *Erythroxylum coca* tiene sensibilidad nula (-) para la mayor parte de las concentraciones evaluadas, y sensibilidad límite (sensibilidad: +) para la máxima concentración del extracto (100%) sobre el crecimiento, in vitro, de la bacteria *Porphyromonas gingivalis*. Los resultados del segundo estudio determinaron una concentración mínima del extracto, capaz de inhibir el crecimiento de dicha bacteria. Este valor fue 6.25%, el cual representa la concentración mínima inhibitoria (CMI) (3).

Por lo que, la presente investigación pretende determinar la eficacia del extracto hidroalcohólico de coca, de la sangre de grado y del gluconato de clorhexidina en el diámetro del halo inhibitorio de las cepas certificadas de *Porphyromonas gingivalis*.

El tema ha sido determinado mediante revisión de antecedentes investigativos y consulta a especialistas.

1.2. Enunciado

EFICACIA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE COCA, DE LA SANGRE DE GRADO Y DEL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA EN EL DIÁMETRO DEL HALO INHIBITORIO DE LAS CEPAS CERTIFICADAS DE *PORPHYROMONAS GINGIVALIS* EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA. UCSM. 2017

1.3. Descripción del problema:

a) Área del Conocimiento

a.1 Área General : Ciencias de la Salud

a.2 Área Específica : Odontología

a.3 Especialidad : Periodoncia.

a.4 Línea Temática : Patología y microbiología periodontal

b) Operacionalización de Variables:

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	INDICADORES	SUBINDICADORES
VE1: Extracto hidroalcohólico de coca	Vegetal polialcaloide multivalente de efecto analgésico y neuroestimulante	<ul style="list-style-type: none"> • Al 25% • Al 50% • Al 100% 	
VE2: Sangre de Grado	Secreción de origen vegetal obtenida del Croton Lechleri, cuyo principio activo es la taspina, de efecto antihemorrágico, antiinflamatorio y cicatrizante	<ul style="list-style-type: none"> • Al 100% 	
VE3: Gluconato de clorhexidina	Antiséptico bisguanídico antiplaca de especial sustantividad en los tejidos orales.	<ul style="list-style-type: none"> • Al 0.12% 	
VR: Diámetro del halo inhibitorio	Dimensión del halo de inhibición que se forma entorno a la bacteria al ser expuesta al inóculo potencialmente antibacteriano en la placa de agar.	<ul style="list-style-type: none"> • Dimensión 	<ul style="list-style-type: none"> • Expresión milimétrica
		<ul style="list-style-type: none"> • Característica establecida 	<ul style="list-style-type: none"> • Resistente • Poco sensible • Sensible • Muy sensible
		<ul style="list-style-type: none"> • Valor establecido 	<ul style="list-style-type: none"> • - • + • ++ • +++

c) Interrogantes Básicas:

- ¿Cuál será la eficacia del extracto hidroalcohólico de coca en el diámetro del halo inhibitorio de las cepas certificadas de *Porphyromonas gingivalis*?
- ¿Cuál será la eficacia de la sangre de grado en el diámetro del halo inhibitorio de cepas certificadas de *Porphyromonas gingivalis*?
- ¿Cuál será la eficacia del gluconato de clorhexidina en el diámetro del halo inhibitorio de las cepas certificadas de *Porphyromonas gingivalis*?
- ¿Cuál es la diferencia en la eficacia del extracto hidroalcohólico de coca, sangre de grado y del gluconato de clorhexidina en el diámetro del halo inhibitorio de las cepas certificadas de *Porphyromonas gingivalis*?

d) Taxonomía de la Investigación:

ABORDAJE	TIPO DE ESTUDIO					DISEÑO	NIVEL
	Por la técnica de recolección	Por el tipo de dato	Por el nº de mediciones de la variable	Por el nº de muestras o poblaciones	Por el ámbito de recolección		
Cuantitativo	Experimental	Prospectivo	Longitudinal	Comparativo	De laboratorio	Cuasi-experimental	Explicativo

1.4. Justificación

El presente trabajo de investigación busca un tratamiento alternativo y novedoso al problema de la periodontitis crónica, que es causa importante de piezas dentarias, mediante la aplicación de un recurso natural que es la coca, mineral que es de uso tradicional en nuestra población, por tanto, tiene relevancia social.

Por otro lado, la aplicación de la coca en otras áreas como la gastroenterología, con resultados favorables para el paciente; nos plantea la posibilidad de su uso en el tratamiento de la periodontitis crónica, lo que

constituiría un avance en el manejo de esta patología, por tanto, el presente estudio tiene relevancia cognoscitiva.

Finalmente, es de relevancia pragmática ya que el presente estudio plantea una alternativa terapéutica para el clínico, específicamente del área de periodoncia.

La investigación realizada ofrece información importante que permite conocer y valorar la propiedad antibacteriana de la hoja de coca, sumándose a otros productos naturales dirigidos al control de la placa bacteriana que ayudan a mejorar el manejo del paciente periodontalmente afectado, ya que este es el primer paso para la posterior elaboración de un producto derivado de esta hoja, dirigido al control de la enfermedad periodontal (1).

2. OBJETIVOS

- 2.1.** Determinar el efecto del extracto hidroalcohólico de coca en el diámetro del halo inhibitorio de las cepas certificadas de *Porphyromonas gingivalis*.
- 2.2.** Determinar el efecto de la sangre de grado en el diámetro del halo inhibitorio de las cepas certificadas de *Porphyromonas gingivalis*.
- 2.3.** Determinar el efecto del gluconato de clorhexidina en el diámetro del halo inhibitorio de cepas certificadas de *Porphyromonas gingivalis*.
- 2.4.** Comparar la eficacia del extracto hidroalcohólico de coca, sangre de grado y del gluconato de clorhexidina en el diámetro del halo inhibitorio de las cepas certificadas de *Porphyromonas gingivalis*.

3. MARCO TEÓRICO

3.1. Conceptos básicos

3.1.1. Hoja de coca

a. Definición

La coca (*Erythroxylum coca*) (quechua: kuka) es una especie de planta con flor sudamericana de la familia de las eritroxiláceas, originaria de las escarpadas estribaciones de los Andes amazónicos.

Tiene un papel importante en las culturas andinas, como analgésico en intervenciones médicas.

Es utilizada como **analgésico** por culturas andinas como las naciones chibchas, aymara y quechua. Sin embargo, es mejor conocida en el mundo entero por sus **alcaloides**, entre los cuales se obtiene, mediante un proceso químico, la **cocaína**, una sustancia que es un potente estimulante del sistema nervioso central y altamente adictivo (4).

b. Antecedentes históricos

Los habitantes andinos conocían esta planta y sus efectos desde épocas muy anteriores a la aparición del Imperio inca.

Los colonizadores europeos le dieron diferentes denominaciones, mientras los nativos la conocían como hoja sagrada por su expresa utilización entre los miembros de la casta superior de los nobles. Al parecer, el uso de esta hoja estaba restringido entre el resto de la población, por lo que también tenía la categoría de presente real para recompensar servicios (5).

Algunos opinan que las facultades provocadas por la hoja de coca se consideraban como un hecho sobrenatural y por ello estaba presente en actos funerarios, entre otros. La utilización de hoja de coca está arraigada en la cultura boliviana y peruana. Sin embargo, el uso sacerdotal que se le dio en el Incario fue para promover estados alterados por ayuno (fastening). La eficacia de la hoja de coca como estimulante fue reconocida por los españoles desde el

mismo momento en que llegan a Sudamérica (siglo XVI) y luego sus efectos fueron descritos con lujo de detalles por los grandes viajeros foráneos del siglo XIX. Uno de ellos, el erudito historiador británico sir Clements R. Markham (1830-1916), recomendó el uso de la coca a todos los turistas y extendió esta recomendación a los miembros de los clubes de alpinismo de Europa. La cortesía de los establecimientos turísticos de la sierra peruana al ofrecerles una taza de infusión de coca a los visitantes de las serranías del Perú, no es desde luego, una "mala costumbre" indígena, sino una amable bienvenida moderna recomendada muy efusivamente por Alexander von Humboldt, D'Orbigny, Von Tschudi, Markham, Mantegazza, De Castelnau, Herndon, Gibbon, Squire, Marcoy y otros. El trueque del acto de chacchar la coca por el más refinado consumo de la infusión es una adaptación costumbrista cuya real efectividad es puesta en duda por muchos. Rodeada por el ceremonial, formalidades y controles ejercidos por la comunidad, raramente es objeto de abuso o descontrol que pueda causar daño a la salud. En las relaciones sociales de la cultura andina, la coca es un obsequio que significa amistad y generosidad. El acto de compartir la coca y consumirla conjuntamente con otros es un hecho muy importante que sella relaciones de confraternidad y confianza entre los participantes. Además, en la medicina tradicional no existe otro remedio con tantos y tan vastos usos cuya efectividad ha sido comprobada. En todos estos sentidos, además de su efecto bioquímico, la coca es uno de los componentes más destacados de la psicoterapia popular nativa, lo que la hace un indispensable elemento de apoyo para la seguridad emocional del hombre andino (6).

El uso de la hoja de coca ha sido tradicional entre muchos de los indígenas de Colombia desde tiempos inmemoriales, especialmente entre los de la Sierra Nevada de Santa Marta. Ahí se puede distinguir entre la manera de hacerse en comunión con la planta entre las culturas de montaña y las culturas de las selvas amazónicas. Las primeras, prefieren mascar la hoja tostada, e irle mezclando cal, algunos elaborándola de conchas marinas, y otros con cal de piedra. Los primeros, la conservan en un pequeño calabazo llamado "poporo". En las amazonas, las culturas que tienen relación con la planta de coca, la tuestan y pulverizan, mezclándola con ceniza de plantas amazónicas; el resultado es un

polvo verde que se llama "mambe". Entre los indígenas colombianos a pesar que la relación con la coca es cotidiana, está revestida de religiosidad, y se considera a la planta como muy sagrada, rodeada de respeto y admiración. No entienden ellos que se le persiga en sus territorios, ya que no fue por su cultura ni sus costumbres el que en ciertos contextos se vea envuelta en varios conflictos. Para la población boliviana, incluyendo mestizos, quechuas y aymaras el consumo de la hoja de coca es parte de la tradición de toda esta población. El akulliku (mascado de coca) ya era practicado desde antes de la llegada de los españoles a tierras andinas. Para el boliviano común, el akullicar está presente en gran parte de sus actividades cotidianas, en una fiesta, lo mismo que en un velorio mascar coca es la práctica común (7).

c. Aspecto medicinal

Las virtudes medicinales de la hoja de coca fueron conocidas por los pueblos prehispánicos y la utilizaban para tratar diversas enfermedades y dolencias. Dentro de las crónicas del Perú se halla el siguiente relato: "...la coca preserva el cuerpo de muchas enfermedades, y nuestros médicos usan de ellas hechas polvo, para aplacar la hinchazón de las llagas, para fortalecer los huesos quebrados, para sacar el frío del cuerpo o para impedir que entre, para sanar las llagas podridas llenas de gusanos". Otros cronistas relataban que los médicos españoles la recetaban en el siglo XVIII para combatir los dolores estomacales, dolores de cabeza y úlceras. Actualmente se recomienda que masticando despacio las hojas de coca y tragando saliva, se pueden aliviar los malestares de las vías digestivas, cólicos y calambre de estómago y de los intestinos, dispepsia, diarreas, etc. También atenúa el dolor provocado por las inflamaciones de la boca, encías y garganta. Es evidente que la hoja sagrada ha sido, es y será medicina ancestral y que pasará de generación en generación. En los últimos treinta años la hoja sagrada ha sido analizada en diversas universidades del mundo, donde se ha comprobado sus bondades medicinales y también alimenticias (8).

d. Aspecto nutricional

Cabe destacar la presencia abundante de minerales en la hoja de coca, especialmente de calcio, cuyas cantidades son mucho mayores a los de la leche y a cualquier otro alimento, por cada 100 gramos de hoja de coca podemos obtener un total de 2200 mg de calcio. La hoja de coca también presenta en su composición: hierro, potasio, magnesio, zinc, yodo, fósforo y azufre. La hoja de coca es una riquísima fuente de proteínas, por cada 100 gramos de hoja de coca tenemos un 20% de proteínas, éstas permiten que el cuerpo pueda reponer los tejidos perdidos, por ello contribuyen al desarrollo del sistema muscular y de los huesos. Es interesante destacar que, en los hallazgos de restos momificados, se pudo investigar que los cuerpos tenían muy buena estructura músculo-esquelética, las piezas dentarias estaban casi completas, una altura promedio entre 1,75 y 1,80 metros. La hoja de coca tiene gran cantidad de vitamina A (alfa y betacarotenos), todas las vitaminas del complejo B (vitaminas B1, B2, B3, B5, B6, B12) indispensables para el organismo, pues fortalece nuestro sistema inmunológico. Numerosos trabajos realizados en diferentes universidades del mundo revelaron que la hoja de coca es uno de los alimentos más completos que se encuentran en la naturaleza. El estudio llevado a cabo por la Universidad de Harvard, en 1975, conformado por los investigadores Duke, Aulik y Plowman, comprobó que la masticación diaria de 100 gramos de la hoja sagrada cumple con los requerimientos nutritivos que necesitan los seres humanos. Los valores nutricionales de dicho estudio. Cada 100 gramos de hoja de coca contiene: Alfa caroteno 2,76 mg Beta caroteno 9,40 mg Calcio 997,62 mg Carbohidratos 47,50 mg Grasa 3,68 mg Nitrógeno 20,06 mg Vitamina C 6,47 mg Vitamina E 40,17 mg Tiamina (vitamina B1) 0,73 mg Riboflavina (vitamina B2) 0,88 mg Niacina 8,37 mg Manganeso 9,15 mg Fosfato 412,67 mg Potasio 1739,33 mg Magnesio 299,30 mg Sodio 39,41 mg Aluminio 17,39 mg Bario 6,18 mg Hierro 136,64 mg Estroncio 12,02 mg Boro 6,75 mg Cobre 1,22 mg Cromo 0,12 mg Alcaloides totales no volátiles 0,70 mg (9).

e. Efectos

- **Sobre el Organismo:** Los efectos del hábito de la masticación de la coca sobre el individuo se deben principalmente a la dosis de alcaloides que ellos

ingieren. Se calcula que extraen un promedio de 86% de los alcaloides y que el 80% de los alcaloides es cocaína, el efecto del resto de los alcaloides (menores) no puede ir más allá de un planeamiento teórico, pues no existen estudios farmacológicos adecuados.

- Estos efectos son de diversa índole, pero entre ellos destacan los de carácter fisiológico y psicológico, tanto agudos como crónicos. Las manifestaciones fisiológicas agudas se caracterizan por taquicardia, ligero aumento de presión arterial y de la temperatura corporal, alteraciones respiratorias, aumento de resistencia a la fatiga, entre otros. En cuanto a las manifestaciones fisiológicas de carácter crónico, su delimitación se ve obstaculizada por el alcoholismo, la deficiente alimentación y en general por las desfavorables condiciones higiénicas en que viven los chacchadores, pero generalmente se asocia a malnutrición, hepatomegalia, linfadenopatías, deficiencias visuales, etc. Respecto a las alteraciones psicológicas, como de la personalidad, se hicieron diversos estudios los cuales se contradicen entre sí, además en algunos ellos se usaron técnicas que ahora no pueden aceptarse como válidas ni fidedignas, por lo tanto, tendríamos que esperar nuevos trabajos acerca del efecto del hábito sobre el estatus mental de los individuos que lo practican (10).
- **Sobre la Cavidad Oral:** La mucosa oral, es una de las estructuras de nuestro cuerpo que constantemente está expuesta a sustancias extrañas dependiendo de muchos factores, entre ellos los hábitos de cada persona, de allí que sustancias como el tabaco, alcohol, café, etc. Han sido motivo de diversas investigaciones sobre el efecto de dichas sustancias sobre la mucosa oral, en el caso de la masticación de la hoja de coca y su efecto sobre las estructuras orales, los estudios son limitados (11).
- **Sobre la Mucosa Oral:** El chacchador crónico mantiene el bolo de coca, durante un tiempo promedio de 6 horas diarias, habiéndose sugerido que la acción irritante y/o friccional de estas sustancias, causan a largo plazo, alteraciones en la mucosa oral, tales como zonas blanquecinas, rugosas, agrietadas, paraqueratosis, acantosis, hiperqueratosis, leucoedema y leucoplasia (4,12,13).

- **Sobre los Dientes y Periodonto:** Según la mayoría de estudios realizados, el desgaste dentario y la enfermedad periodontal tienden a incrementarse con el hábito del chacchado. Se cree que la primera de ellas es causada tanto por efectos físicos (abrasión) como químicos (erosión) y la segunda por el contacto de las sustancias usadas en el chacchado con las estructuras de soporte dentario, las cuales son debilitadas (14,15).

f. **Composición Química de la Coca**

La hoja de coca depende de factores intrínsecos y extrínsecos. Entre los factores extrínsecos, se tiene a la ubicación geográfica, la forma en que ha sido cultivada la planta y el medio ambiente en el que se desarrolla la especie; como intrínsecos tenemos la edad de la especie vegetal. La hoja de coca también presenta en su composición química: Aceites esenciales y son los que les dan a las hojas de coca su aroma especial (16).

g. **Propiedades Nutricionales de la Hoja de Coca**

Gracias a la investigación realizada por la Universidad de Harvard, en 1975, titulada “Valor nutricional de la hoja de coca”, se ha probado que la masticación diaria de 100 gramos de hojas de coca, satisface la ración alimentaría recomendada tanto para el hombre para la mujer. Su contenido en vitaminas y determinados oligoelementos hacen que al mismo tiempo el mate de coca constituya un complemento nutritivo de la dieta diaria. Estos mismos estudios de la Universidad de Harvard sostienen que en 100 gramos de coca se pueden tener casi dos gramos de potasio que son necesarios para el equilibrio del corazón y se le atribuyen además propiedades adelgazantes. Sabiendo que estos mates son tan ricos en estos nutrientes, se convierten en alimento y medicina. La concentración de cocaína en la hoja es muy baja, según investigaciones realizadas por médicos farmacólogos de la Universidad de Caldas, y, por lo tanto, ingerida en forma natural, no produce toxicidad ni genera dependencia. Actúa como estimulante leve, mejora la atención y la coordinación de ideas (17).

3.1.2. Sangre de grado

a. Antecedentes

Croton lechlerii (Sangre de grado), es una planta amazónica de la familia de las Euforbiáceas de relativa abundancia en los bosques de la amazonia y ampliamente usado como cicatrizante, antihemorrágico y antiinflamatorio, el principio activo principal de esta planta se llama taspina y se halla mezclado junto con saponinas, proantocianinas, magnoflorina, y triterpenos tales como: eufol, forbol y tirucalol (18). Al aplicar el látex sobre la hemorragia causada por una lesión abierta en la piel o el músculo rápidamente se detiene esta; mas no debe usarse cuando hay heridas con hematomas y tumefacción a la vez porque se crearía una falsa costra que evitaría el drenaje de pus (19). Por analogía de su actividad cicatrizante sobre heridas externas limpias (sin presencia de patógenos) se cree que también puede usarse en el tratamiento de úlceras internas sangrantes en pequeñas cantidades (4 gotas por litro de agua), se usa para el tratamiento de la gastritis; pero no es menos cierto que contiene además clerodanos y dos sustancias tóxicas cocarcinogénicas activas (eufol y forbol), presente en la mayoría de plantas del género *Croton* y que cuando son usados en cantidades mayores a una dosis homeopática puede manifestarse sus efectos adversos. También cabe hacer mención la presencia de flavonoides condensados (proantocianinas) utilizados en el tratamiento de diarreas por *cryptosporidium* común en las personas que padecen SIDA, contiene saponinas que contribuyen en detener las hemorragias que si bien son importantes quedan minimizados por la ostensible actividad cicatrizante de la Taspina considerado como su principal y más activo constituyente (19).

Málaga G.E. en 1991, encontró que la Taspina posee actividad cicatrizante en úlcera gástrica, inducida en ratas, lo que verifica en cierto modo el uso popular que se da a la sangre de grado en esta enfermedad en mínimas cantidades (20).

La Taspina se caracteriza por promover la formación de fibroblastos y colágeno hasta la formación del cicatrizal contrariamente como señalan ciertos autores que atribuyen a la Taspina propiedades cocarcinogénicas (21), su actividad antiangiogena le permite más bien inhibir la formación de vasos sanguíneos que

impide la proliferación del cáncer y su reducción ha sido comprobada en una prueba empírica realizada con la señora Delfina Huayta anciana de 78 años de edad de la localidad de Padre Cocha (Rio Nanay) que sufre de un cáncer de piel localizado en la nariz, conocido como carcinoma basocelular, a la que se aplicó Taspina en crema promoviendo la forma de cicatrizal y deteniendo la formación de vasos sanguíneos, experimento que no continuó por las limitaciones económicas ya que un estudio serio demanda de un grupo profesional multidisciplinario y con manejo de recursos económicos adecuados. Los árboles de sangre de grado (*Croton lechlerii*) según su hábitat varían en su contenido de Taspina, esta variación inter específica puede ser atribuida al suelo, pH, y otras condiciones geomorfológicas y ambientales, pero también a su edad, un árbol de menos de 5 años tiene un bajo rendimiento de Taspina, es sabido que la sangre de grado que crece en terrenos de arcilla rojiza con presencia de fierro contiene mayor cantidad de Taspina en relación con aquellas plantas que crecen en terrenos bajos y arenosos. La presencia de rafidios (cristales de oxalato de calcio) en el látex da un indicio acerca de la presencia de Taspina (36). Hay una ostensible variación de Taspina en el látex según la zona de donde provenga, por ejemplo si se compara el látex de sangre de grado de Perú con el del Ecuador, se observa que en el látex del Perú la Taspina se presenta como el componente principal, mientras que en el látex de Sangre de Grado de Ecuador se presenta en pequeñas cantidades pero contiene mayor cantidad de Magnoflorina que es un precursor de la Taspina, al punto tal que Shamma Maurice and Moniot J.L. lograron la síntesis de la Taspina a partir de Magnoflorina (22). Por ser un alcaloide que tiene una amplia respuesta biológica debido a su estructura lactónica ha despertado grandes expectativas como molécula anticancerígena y se viene probando con variedades de cáncer sobre las que tiene respuesta antiangiogena frente a la enzima que segrega el cáncer para generar vasos sanguíneos y logra su actividad invasiva, además de su probada actividad cicatrizante, tiene potente actividad antiinflamatoria y anti-hemorroidal que supera largamente la actividad de cualquier fármaco anti-hemorroidal por ejemplo: "Hemorrodil, Venocurón, Scheriproct, etc. Casi siempre la sangre de grado (*Croton lechlerii*) adquirido en el mercado de "Productos Naturales" de Iquitos (Psj. Paquito) es adulterado y no existe patrón de comparación que pruebe su autenticidad. Los organismos de control como

INDECOPI y DIGEMID no poseen infraestructura para realizar el control de calidad, pero la adulteración permite que un producto natural de innatas bondades se desacredite y pierda interés. Cuando la Sangre de grado se aplica como remedio casero, la exigencia de saber si posee Taspina no tiene mayor importancia, más si se pretende exportar para obtención de Taspina; requiere de certificación, un buen control de calidad y rendimiento de este alcaloide en el látex (23).

b. Identificación taxonómica de la especie

Las muestras de las que obtuvimos el látex procedente de las cuencas de los ríos Nanay (Bajo) y Napo (alto) respectivamente.

- Reino: Plantae
- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnoliopsidae
- Orden: Malphygiales
- Familia: Euforbiaceae
- Subfamilia: Crotonoideae
- Género: Croton
- Especie: Croton lechlerii. Muell-Arg

Nombre Vulgar: “Sangre de grado”, “Sangre de drago” (Perú), blood (USA), Sangre de grado (Bolivia), Sangre de dragão (Brasil), Sangre grado (Colombia), Sangre de drago y balsa macho (Ecuador) (24).

c. Procedencia

Cuencas de los ríos Nanay (Bajo) y Napo (Alto) (24).

d. Propiedades

La sangre de grado (*Croton lechlerii*) es una especie ampliamente conocida y requerida principalmente por sus propiedades medicinales. Contiene el alcaloide Taspina de acción cicatrizante, biogénicamente derivado de un precursor conocido como magnoflorina, además presenta proantocianidinas oligoméricas (SP-303). Especies de esta familia presentan agentes antitumorales y alcaloides

como: Piridona, indolaporfina, quinoleína, tropano, ácidos grasos insaturados, antraquinonas, epoxi-ácidos-grasos, triterpenoides. Del género *Croton*, se han aislado 30 alcaloides, con estructura conocida, siendo los principales: Solutaridina, taspina, sinoacutina, sparciflorina. También se encuentra ácido benzoico, pigmentos, taninos y otros compuestos. En cantidades relativamente pequeñas por ejemplo cuatro gotas diluidas en un litro de agua se usan para la gastritis producido por *Helicobacter pylori*, para lavados vaginales para combatir lesiones producidas por *Candida albicans*, es activo contra *Trichophyton mentagrophytes*, que produce tiña asociada a *Epidermophyton floccosum* contra cuyo hongo también es activo (24).

e. Propiedades medicinales

Croton lechlerii (Sangre de grado) resulta ser una de las plantas más reconocidas en la Amazonia peruana por sus propiedades medicinales, ya que posee un principio activo antihemorrágico que detiene rápidamente el sangrado por cortaduras en la piel u otras partes del tejido conjuntivo, y que cuando no es muy pronunciado la herida con su aplicación se evita su saturación y cuando cicatriza no deja huellas visibles o queloideas pues como cicatrizante promueve migración fibroblástica, es decir traslación de células jóvenes procedentes del mesénquina con cuerpo fusocelular y núcleo alargado, que intervienen en la formación de sustancia intercelular del tejido conjuntivo (sustancia cementante ante un corte o herida) al final de dicha actividad secretora se convierte en fibrocito (célula fija de tejido conjuntivo alargado, con abundantes prolongaciones y dotado de un núcleo ovalado que es la forma de reposo del fibroblasto). Ya Cai et al, citado por Whitson Anna señala que *Croton lechlerii* es activo contra *Escherichia coli*. Unas pocas gotas en agua se pueden beber para cortar la diarrea. La determinación de los metabolitos secundarios de *Croton lechlerii* así como los ensayos biológicos son importantes para corroborar y/o rechazar la información etnobotánica y etnofarmacológica acopiada acerca de sus propiedades. La Taspina es el alcaloide dilactónico de Sangre de Grado que tiene acción antiinflamatoria aplicada siguiendo diversos modelos farmacológicos; la Taspina como clorhidrato muestra actividad cicatrizante en pruebas in vivo con ratones debido a que promueve migración fibroblástica

dando lugar a que células jóvenes procedentes del mesénquima (tejido conjuntivo embrionario) con cuerpo fusocelular y 32 núcleo alargado intervienen en la formación de sustancia intercelular del tejido conjuntivo y al finalizar la actividad secretora forman los fibrocitos que conforman el tejido conjuntivo (24).

f. Aspectos Farmacológicos

La Taspina es una molécula con amplias alternativas bioactivas en el tratamiento del cáncer (leucemia y carcinoma baso celular) asociado a otros medicamentos por sus propiedades antiangiogénicas (inhibidor de la producción de vasos sanguíneos que evita la proliferación del cáncer); como antihemorrágico, en el tratamiento de hemorroides, cicatrización de úlceras y como antimicrobiano (25).

- Según Persinos la Taspina y el clorhidrato de Taspina exhiben propiedad anti-inflamatoria.
- Según Lewis W. H. et al, posee actividad antiulcerosa.
- Según Itokawa et al tiene actividad citotóxica.
- Según Sethi M.L actúa como inhibidor de la polimerasa viral del ADN. Comparando fenilbutazona 200-250 mg/kg de peso con 58 mg/kg dosis efectiva oral media de Taspina, resulta ser que Clorhidrato de Taspina es 3 a 4 veces más potente como anestésico y antiinflamatorio que la fenilbutazona.

Planas 1984 aisló Taspina extraída de *Croton Lechlerii* (sangre de grado) y para que sea hidrosoluble la llevó a clorhidrato de Taspina e hizo pruebas cicatrizantes in vivo con ratones, al ser administradas en solución acuosa a una dosis de 0.066 mg/ml, observó que posee actividad cicatrizante en las primeras 60 horas del tratamiento. Según Vaisberg la dosis efectiva típica ED50 es de 0.375 mg/kg el clorhidrato de Taspina aumenta la migración fibroblástica de fibroblastos humanos del prepucio en cultivos celulares (26). La Taspina inhibe algunos virus que causa cáncer tales como: Sarcoma tipo I (virus del Sarcoma de monos) y la leucemia (virus de la leucemia Rauscher y Murina).

Sethi señala que probablemente la Taspina actúa sobre la transcriptasa reversa de los virus que se usan en la replicación viral de células normales, es posible que los inhibidores de esta enzima sean capaces de inhibir cáncer en humano.

Chen et al citado por Meza señala que la taspina tiene potente actividad cicatrizante contra células KB y V-79 (26).

3.1.3. Clorhexidina

La clorhexidina es una sustancia desinfectante de acción bactericida y fungicida. Pertenece al grupo de las biguanidas y se encuentra en el listado de Medicamentos esenciales de la Organización Mundial de la Salud, una lista que contiene los medicamentos más importantes que se requieren en un sistema sanitario. Se utiliza ampliamente en odontología en concentraciones de 0,2%, 0,12% y 0,10 % en presentaciones para el uso como colutorio o enjuague bucal. La clorhexidina fue desarrollada en la década de los 40 por Imperial Chemical Industries en Inglaterra por científicos que realizaban un estudio sobre la malaria. En ese momento los investigadores fueron capaces de desarrollar un grupo de compuestos denominados polibiguanidas, que demostraron tener un amplio espectro antibacteriano y salió al mercado en 1954 como antiséptico para heridas de la piel. Posteriormente comenzó a usarse en medicina y cirugía tanto para el paciente como para el cirujano. En odontología se utilizó inicialmente para desinfección de la boca y endodoncia (13,27).

a. Concepto

La clorhexidina es un potente antiséptico del grupo de las biguanidas que actúa eficaz y rápidamente como bactericidas sobre microorganismos Gram. (+) y (-), pero poco eficaz sobre bacterias ácido resistentes hongos o virus. se utiliza para enjuagues bucales en el tratamiento de la gingivitis y de la enfermedad periodontal y tópicamente en la preparación de la piel del paciente antes de una operación quirúrgica, lavado de heridas, y tratamiento del acné vulgar. Otros usos de la clorhexidina incluyen la profilaxis y el tratamiento de las infecciones de boca, la estomatitis, la estomatitis ulcerativa y la gingivitis aguda ulcerativa necrotizante (28).

b. Composición

Este compuesto es una base fuerte dicatiónica a pH superior a 3,5 con dos cargas positivas en cada extremo del puente de hexametileno. Es esta

naturaleza dicatiónica la que la hace extremadamente interactiva con los aniones, lo que es relevante para su eficacia, seguridad, efectos secundarios locales y dificultad para formularla en productos (29).

Cada 100 ml de solución contiene: Clorhexidina gluconato.....0.12g.
Excipientes csp.....100 ml.

c. Mecanismo de Acción

La clorhexidina desestabiliza y penetra las membranas de las células bacterianas. La clorhexidina precipita el citoplasma y interfiere con la función de la membrana, inhibiendo la utilización de oxígeno, lo que ocasiona una disminución de los niveles de ATP y la muerte celular. En las bacterias Gram-negativas, la clorhexidina afecta la membrana exterior permitiendo la liberación de las enzimas periplasmáticas. La membrana interna de estos microorganismos no es destruída, pero sí que es impedida la absorción de pequeñas moléculas. A bajas concentraciones, la clorhexidina exhibe un efecto bacteriostático, mientras que a altas concentraciones es bactericida. Los siguientes microorganismos muestran una alta susceptibilidad a la clorhexidina: Estreptococos, estafilococos, Cándida albicans, Escherichia coli, salmonellas, y bacterias anaeróbicas (29,30).

d. Reacciones Adversas

Ocasionalmente se puede presentar alteración transitoria en el gusto, efecto cuya incidencia es reducida por la baja concentración de principio activo (30).

e. Concentraciones

La clorhexidina suele presentarse en dos concentraciones, al 0,12% y al 0,2%, 0.4% (29,30).

f. Indicaciones y Dosificación

Colutorios: la clorhexidina para enjuagues orales se comercializa en envases que contienen un vasito o medida de unos 15 ml. Esta es la dosis que se debe mantener en la boca durante aproximadamente 1 minuto (31).

Clorhexidina para aplicación tópica: utilizar una gasa o algodón para tratar el área deseada. Evitar el contacto con los ojos, los oídos y la boca. Si esto ocurriera, enjuagar inmediatamente con agua abundante. La clorhexidina se debe mantener fuera de la luz, evitando temperaturas extremas (30,31).

g. **Contraindicaciones**

Hipersensibilidad al gluconato de clorhexidina (30).

h. **Interacciones**

Aunque la clorhexidina se absorbe muy poco por el tracto digestivo puede haber una interacción potencial con el disulfiram, debido al contenido en alcohol de los enjuagues orales. La ingestión de alcohol en los pacientes tratados con disulfiram puede ocasionar serios efectos secundarios. Los pacientes tratados simultáneamente con metronidazol y clorhexidina pueden experimentar una reacción similar a la del disulfiram (30).

3.1.4. ***Porphyromona gingivalis***

a. **Descripción**

Porphyromonas gingivalis es una especie de bacilos Gram negativo pequeño (cocobacilos), no móvil, anaerobio estricto, asacarolítico, que forma colonias uniformes de coloración verdosas, pardas o negras debido a la hemina que almacena en la superficie celular (Fig. 1). Células de *P. gingivalis* tienen un diámetro de 0.5-0.8 μ m por 1.0-3.5 μ m de largo (32).



Figura 1: se observa un grupo de colonias color verdosas, pardas o negras de *Porphyromonas gingivalis*

Algunos de los tipos poseen actividad proteolítica, como por ejemplo, *Porphyromonas gingivalis* y *Porphyromonas macacae*, otros son relativamente no proteolíticos. Cuando crecen en complejos carbohidratados (excepto *Porphyromonas gingivalis* asacarolítica) y proteínas, los principales productos de fermentación son nbutirato, propionato y acetato, y en menor cantidad iso-valerato, iso-butirato, succinato y fenilacetato. Estos productos finales explicarían muchos de los malos olores asociados con infecciones orales (32).

Como se mencionó anteriormente, *P. gingivalis* es un importante miembro de la microbiota periodontal, involucrado tanto en la progresión de la periodontitis, como en los procesos de destrucción de hueso y tejido (32). También, puede producir severas infecciones extraorales, incluyendo mediastinales, de planos faciales, cerebro y abscesos pulmonares (33), enfermedades cardiacas (34), parto prematuro y bajo peso al nacer (35).

Porphyromonas gingivalis es comúnmente detectada en pacientes jóvenes con gingivitis, y pacientes adultos con periodontitis, usando métodos inmunológicos y de biología molecular (PCR). Esta especie también se ha encontrado en placas supragingivales maduras, de pacientes jóvenes con o sin destrucción periodontal, sugiriendo que es un patógeno de tipo oportunista, para el cual no está claro aún, si es de origen endógeno o exógeno (36).

b. Taxonomía

El género *Porphyromonas*, específicamente la especie *Porphyromonas gingivalis*, fue definido a partir del grupo *Bacteroides melanigogenicus* (37) dada la heterogenicidad genética de este grupo, demostrada por Shah y Hardie (38), y Coykendall et al (39). Por medio de la técnica de hibridación DNA-DNA, se propuso una nueva especie, *Bacteroides gingivalis* para estas bacterias de origen bucal (40). Luego, por la secuencia de rRNA de 16S, *Porphyromonas* se alejó genealógicamente de *Bacteroides* y *Prevotella* (37). Especies del género *Porphyromonas* se han encontrado asociadas con hospederos humanos y/o animales (32).

c. Nutrición

Porphyromonas gingivalis es una especie proteolítica, asacarolítica, anaerobia estricta, por lo que coloniza sitios en donde la tensión de oxígeno es baja, pero en los cuales hay substratos abundantes en nitrógeno. El ecosistema subgingival proporciona un medioambiente ideal para esta especie, ya que, el potencial redox es bajo (y más bajo aún en sacos periodontales), y posee nutrientes endógenos ricos en péptidos y aminoácidos (37).

P. gingivalis tiene un requerimiento obligado de hierro para crecer. Sin embargo, cuando ocurre una falta de hierro en el sistema de poros de la bacteria (sideporos, los cuales quedan hemina) utiliza hemina (hierro protoporfirina IX). Los niveles de hemina en boca son variables y el sangramiento, como resultado de la inflamación gingival, elevaría su concentración subgingival, de modo que este puede ser un factor que predispone a la acumulación de esta bacteria. La hemina que se acumula en la membrana extracelular actúa como "basurero" de oxígeno ayudando a mantener un microambiente anaerobio (41).

d. Factores de virulencia

Se ha demostrado que LPS de esta especie induce la producción de IL-6 e IL-8 desde fibroblastos del ligamento periodontal en humanos. Las evidencias indican que LPS de *Porphyromonas gingivalis*, especialmente su lípidoA, es capaz de estimular la respuesta inflamatoria del hospedero indirectamente a través de la producción de citokinas (32).

Porphyromonas gingivalis produce un gran número de enzimas, proteinasas y productos finales de su metabolismo que son activos contra un amplio espectro de proteínas del hospedero, y está provista de mecanismos para evadir las defensas de éste. Dichos compuestos corresponden a inhibidores de proteinasas, inmunoglobulinas, proteinasas que contienen hierro, proteínas bactericidas, proteínas de matriz extracelular, y proteínas íntimamente envueltas en funciones fagocíticas, tales como fijación de complemento y coagulación. La mayoría de las actividades enzimáticas de *Porphyromonas gingivalis* son asociadas a la proteínasa cisteína, la cual le proporciona ventajas metabólicas, ya que le otorga la capacidad de utilizar largas proteínas del

hospedero para su crecimiento y desarrollo (32). Una de las características de virulencia significativas de *Porphyromonas gingivalis* es este gran número de enzimas hidrolíticas, proteolíticas y lipolíticas, que son producidas esencialmente por todos los tipos de *P.gingivalis* conocidos. Varias de estas proteinasas asociadas a *P.gingivalis* (capaces de hidrolizar péptidos unidos) parecen ser funcionalmente importantes en el medioambiente in vivo. Estos factores de virulencia in vivo, si actúan en el hospedero, pueden jugar un rol significativo en la progresión de la periodontitis (32).

Dentro de las proteinasas de *Porphyromonas gingivalis* se consideran a las colagenasas y a las aminopeptidasas como críticas en la patogénesis de la bacteria. Existen proteinasas específicas como arginina y lisina proteinasa, producidas por *Porphyromonas gingivalis*. Son proteinasas cisteínas, y han recibido un nombre en común, gingipains. Estas son un potente regulador de la permeabilidad vascular, siendo capaces de inducir la permeabilidad vascular en plasma humano y unirse directamente a bradiquininas. Además, se consideran quimiotácticas para PMNN. Arg-gingipain es capaz de inactivar especies de oxígeno reactivas (bactericidas naturales) producidos por PMNN, el cual es un importante mecanismo en la defensa del hospedero (32).

Otro tipo de proteinasas que produce *Porphyromonas gingivalis* para protegerse de los mecanismos de defensa del hospedero son las proteinasas inmunoglobulinas como IgA1, IgA2 e IgG (32).

Un tipo de proteinasas llamadas caseinolíticas son capaces de degradar colágeno tipo I y IV, IgG humana, fibronectina, y complemento C3, C4, C5 y C5a, también inhiben la actividad bactericida de PMNN (32).

Existen unas proteínas bacterianas que actúan como factor de virulencia llamadas hemaglutininas. *Porphyromonas gingivalis* produce a lo menos cinco de ellas. Cuando se expresan en la superficie bacteriana, pueden promover la colonización mediante la unión de bacterias a receptores (usualmente oligosacáridos) en células humanas. Existe una relación entre la capacidad de hemaglutinación y la actividad proteolítica de *Porphyromonas gingivalis*, lo que se ha dilucidado mediante análisis genéticos (41).

3.2. Análisis de antecedentes investigativos

- a. **Título:** Patología oral en masticadores de hojas de coca. Tesis Doctoral. UPCH. Lima, 1972.

Autor: Ungaro, M.

Resumen: Estudio en un grupo de 500 chacchadores de la hoja de coca, que la prevalencia de lesiones cariosas era de un 68% (15).

- b. **Título:** Eficacia antibacteriana in vitro del extracto etanólico de propóleo frente a la Porphyromonas Gingivalis Atcc 33277. 2018

Autor: Gonzales Carrillo, Gean Carlos

Resumen: La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la eficacia antibacteriana in vitro del extracto etanólico de propóleo peruano a concentraciones del 5, 10 y 20% frente a cepas de Porphyromonas gingivalis ATCC 33277 a las 24 y 48 horas. Metodología: Se realizó el método de difusión del agar. Los halos de inhibición se midieron usando un calibrador vernier y fueron registrados en una ficha de recolección de datos. Los datos fueron analizados con la prueba de contrastes múltiples de Tanhame para grupos independientes mientras que para la comparación entre tiempos se utilizó la prueba t de student para muestras relacionadas. Resultados: Se ha observado en todos los grupos entre las 24 y 48 horas demostrando ser altamente estadísticamente significativa ($p < 0.005$) ya que la distribución de los valores del diámetro del halo inhibitorio muestra un aumento diferente tanto entre grupos como dentro de cada uno de ellos. En conclusión, el extracto etanólico de propóleo al 20% medido a las 48 horas presenta una eficacia antibacteriana frente a cepas de Porphyromonas gingivalis semejante a la eficacia antibacteriana de la clorhexidina (0.12%). Conclusiones: Se ha concluido que existe eficacia del propóleo y podría usarse a futuro como medicina natural para el tratamiento de la enfermedad

periodontal, para ello se necesita realizar investigaciones utilizándolo para poder confirmar esta posibilidad (42).

- c. **Título:** Evaluación "in vitro" del efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de erythroxlaceae erythroxyllum coca novogranatense frente al Streptococcus mutans atcc 25175 en comparación con el gluconato de clorhexidina al 2% Chimbote 2018

Autor: Sánchez Huamàn, Edwards Gianmarco

Resumen: La presente investigación de tipo experimental, transversal, prospectivo y analítico "in vitro". Tuvo como objetivo determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de la hoja de Erythroxlaceae erythroxyllum coca novogranatense frente al Streptococcus mutans ATCC 25175 en comparación con el gluconato de clorhexidina al 2%; se desarrolló en el laboratorio de la facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad los Ángeles de Chimbote, con el fin de buscar una nueva alternativa de prevención frente a la caries dental. El estudio se ejecutó usando el gluconato de clorhexidina al 2% (10uL, 30uL y 60uL) y tres concentraciones de extracto etanólico (25%, 50% y 75%). Se empleó la técnica de "extracción etanólica de la hoja de coca"; para la reactivación de la bacteria se utilizó como medio de cultivo (BHI) y se realizó el método de difusión en agar Kirby Bauer; posteriormente para la comparación ,se preparó discos de papel filtro Whatman, los cuales fueron embebidos con el extracto etanólico de la hoja de coca y discos con gluconato de clorhexidina al 2% sobre las placas Petri preparados con Müeller Hinton previamente sembradas con la cepas de Streptococcus mutans ATCC 25175. Los resultados, arrojan la generación de halos inhibitorios de pequeña longitud para tres concentraciones de extracto etanólico, y la generación de halos de mayor longitud para el gluconato de clorhexidina al 2%; con lo que se llegó a la conclusión que el tratamiento más eficaz es del gluconato de Clorhexidina al 2% en volumen de 60 uL, porque nos proporciona un mayor diámetro de halo de inhibición (43).

d. Título: Eficacia inhibitoria del aceite esencial de *Cymbopogon Citratus* sobre cepas de *Porphyromona Gingivalis*: Estudio in vitro. Ecuador. 2018

Autor: Jessica Alejandra Morillo Castillo, Mariela Cumandá Balseca Ibarra

Resumen: Las plantas con propiedades terapéuticas utilizadas en la asistencia sanitaria tradicional han sido estudiadas ampliamente en los últimos años y constituyen una alternativa importante frente a diferentes tratamientos odontológicos. **Objetivo:** Determinar el efecto inhibitorio del aceite esencial de *Cymbopogon Citratus* (CC) a diferentes concentraciones sobre cepas de *Porphyromonas Gingivalis* (Pg). **Materiales y métodos:** Estudio experimental, in vitro. La muestra fue constituida por 24 cajas Petri con cultivos de Pg ATCC® 33277™ en Agar Mueller Hinton, cada una con 5 discos correspondiente a los 5 grupos de estudio siendo: G1 aceite esencial de CC al 100%; G2 aceite esencial de CC al 50%; G3 aceite esencial de CC al 75%; G4 clorhexidina 0,12% (control positivo); G5 suero fisiológico (control negativo). A las 24 horas de incubación se efectuó la medición de los halos utilizando la regla Antibiotic Zone Scale (mm) con los parámetros de sensibilidad determinados por la escala de Duraffourd et al., 1986 siendo: Nula (-) < 8mm, Sensible (+) >8mm ≤14mm, Muy sensible (++) >14 ≤ 20mm y Sumamente sensible (+++) > 20mm. Se utilizó para el análisis los test de ANOVA y Tukey con un nivel de significancia del 5%. **Resultados:** El aceite esencial de CC mostró un halo de inhibición de 14mm, 12mm y 10mm a concentraciones de 100%, 50% y 75% respectivamente. La Clorhexidina 0,12% se observó valores de inhibición de 17mm. Se observó diferencia estadísticamente significativa entre los grupos (< 0.001). **Conclusión:** El aceite esencial de CC al 100%, 50% y 75% demostraron ser sensibles, frente a la *Porphyromona Gingivalis* (44).

- e. **Título:** Efecto inhibitorio de la sangre de drago (croton lechleri) a diferentes concentraciones frente a streptococcus mutans y porphyromonas gingivalis estudio microbiológico in vitro. Quito. 2018

Autor: Espinosa Martínez, Andrea Michelle

Resumen: La evidencia científica reconoce al Streptococcus mutans como el principal microorganismo causante de la caries dental, mientras que la Porphyromonas gingivalis es una bacteria patógena que esta prevalente en periodontitis crónica. Estas bacterias son un problema para la salud ya que ocasionan un desequilibrio en la microbiota de la cavidad oral. Por esta razón se ha considerado utilizar a la sangre de drago como antimicrobiano, ya que ciertos estudios confirman su efectividad inhibitoria frente al Streptococcus mutans, sin embargo, no existe ningún estudio que confirme el efecto inhibitorio frente a las Porphyromonas gingivalis. Pese a que en el medio odontológico existen antimicrobianos efectivos contra estas bacterias como la clorhexidina, lo que se busca en esta investigación es tener una opción de origen natural, más económica, y de fácil alcance como la sangre de drago. Para comprobar esto usamos 22 cajas Petri de Agar Muller Hinton inoculadas con cepas de Streptococcus mutans ATCC® 25175TM y 22 cajas Petri con agar Muller Hinton inoculadas con cepas de Porphyromonas gingivalis ATCC® 33277TM, el control positivo se realizó con la clorhexidina al 2%, mientras que el control negativo con agua estéril. Posteriormente se coloca los discos embebidos con sangre de drago al 25%, 50%, 75% y 100% de concentración y ambas bacterias fueron llevadas a la incubadora; Las cajas Petri de Streptococcus mutans fueron incubadas a 37°C, y en el caso de la Porphyromonas gingivalis se colocaron en fundas de anaerobiosis para luego ser llevadas a la incubadora a 37°C y Co2 al 5%. Los resultados se leyeron a las 12, 24, 48 y 72 horas respectivamente obteniendo resultados que posteriormente fueron analizados estadísticamente con el análisis Anova y la prueba T student. La sangre de drago presentó más efectividad inhibitoria sobre

cepas de *Streptococcus mutans* obteniendo un halo de inhibición máximo de 19.10 mm el cual se dio a las 24 horas a la concentración del 100%, mientras que en la *Porphyromona gingivalis* el halo de inhibición máximo es de 14.30mm el cual se dio a las 72 horas en concentración del 100%. Sin embargo, la sangre de drago no igualo ni superó el efecto inhibitorio que viii presenta la clorhexidina al 2% ya que su máxima inhibición en el *Streptococcus mutans* es de 26.5mm y en la *Porphyromonas gingivalis* es de 38mm. Se concluyó que la sangre de drago a diferentes concentraciones si presentó efecto inhibitorio tanto en el *Streptococcus mutans* como en la *Porphyromonas gingivalis* a las 12, 24, 48 y 72 horas. De igual forma pudimos concluir que la sangre de drago tiene un efecto inhibitorio más potente sobre el *Streptococcus mutans* que sobre la *Porphyromonas gingivalis* (45).

- f. **Título:** Grado de eficacia del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y clorhexidina al 0,12% en la inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis*. estudio comparativo in vitro. Lima 2016.

Autor: Quichca Mendoza, Juan Carlos

Resumen: Desde el inicio de la historia se ha evidenciado la presencia de la enfermedad periodontal, registrándose múltiples tratamientos a base derivados naturales frente a esta afección por lo tanto el presente estudio in vitro, tuvo como propósito determinar el grado de eficacia del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y Clorhexidina al 0.12% en la inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis*. La población estuvo conformada por 40 placas Petri con cepas de *Porphyromonas gingivalis*, en donde se aplicó el método de difusión en agar por discos, empleándose discos de papel embebidos con 20 ul de aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 50%,100% así como Clorhexidina al 0.12% y agua destilada. Las placas Petri inoculadas y con medicación, fueron incubadas por 24 horas a 37°C, siendo retiradas únicamente al momento de medir los halos de inhibición, es decir a las 24 y 48 horas. Los datos se procesaron con

la prueba estadística de análisis de varianza, obteniendo como resultado que las concentraciones al 50% y 100% del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) presentaron un halo de inhibición de $6.72 \pm 0.37\text{mm}$ y $10.81 \pm 0.79\text{mm}$ respectivamente a las 24 horas, mientras que $5.83 \pm 0.51\text{mm}$ y $8.24 \pm 0.75\text{mm}$ a las 48 horas respectivamente, mientras que la Clorhexidina mostró un halo de inhibición de $15.8 \pm 0.73\text{mm}$ a las 24 horas y $15.98 \pm 0.80\text{mm}$ a las 48 horas frente a cepas de *Porphyromonas gingivalis*. Concluyendo que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 50 %, 100% son menos eficaces que la Clorhexidina al 0.12% en la inhibición del crecimiento de *Porphyromonas Gingivalis* a las 24 y 48 horas (46).

g. Título: Efecto Inhibidor del aceite esencial de *rosmarinus officinalis* (Romero) y clorhexidina al 0.12% sobre *Porphyromonas gingivalis*. Estudio in vitro. Lima 2015

Autor: Carhuaricra Soto, Yudiht Abigail

Resumen: En la enfermedad periodontal existen diversos microorganismos, uno de ellos es la *Porphyromonas gingivalis*, que es una bacteria anaeróbica estricta, Gram-negativa y de mayor predominancia en la periodontitis crónica, eliminada comúnmente por la clorhexidina al 0,12%. En el presente estudio se tuvo como propósito determinar el efecto inhibidor del aceite esencial del *Rosmarinus officinalis* (romero) y clorhexidina al 0,12% sobre *Porphyromonas gingivalis*, mediante el método de difusión agar por discos, como un esfuerzo por encontrar una sustancia antimicrobiana alternativa natural, eficaz y económica contra esta bacteria. Para ello, se inocularon cepas de *Porphyromonas gingivalis* en las 40 placas petri que contenían agar Mueller Hinton, posteriormente se procedió a colocar 3 discos embebidos en 20ul. de clorhexidina al 0,12%, aceite esencial del *Rosmarinus officinalis* (romero) y agua destilada como control negativo en cada placa. Luego las placas fueron incubadas a 37°C en una jarra anaerobiótica por el resto de la investigación, siendo únicamente retirados de la estufa para medir los halos de inhibición

generados a las 24 y 48 horas. Los datos fueron procesados en el programa SPSS y se aplicó la prueba estadística de T de Student. Concluyéndose que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) tuvo efecto inhibitor frente a *Porphyromonas gingivalis* y que la clorhexidina al 0,12% tuvo un mayor efecto inhibitor que el aceite esencial frente a esta cepa bacteriana (47).

4. HIPÓTESIS

Dado que, la coca es esencialmente un polialcaloide alcalinizante, neuroestimulante de comprobado efecto analgésico; en tanto que la sangre de grado tiene un principio activo, denominado taspina de efecto antiinflamatorio, antihemorrágico y cicatrizante; y, la clorhexidina, es un componente bisguanídico de efecto antiséptico, inhibitor de placa y poseedor de una comprobada sustantividad:

Es probable que, la eficacia del extracto hidroalcohólico, de sangre de grado y de la clorhexidina sea diferente en el diámetro del halo inhibitorio de las cepas certificadas de *Porphyromona Gingivalis*.



CAPÍTULO II
PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

II. PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN

1.1. Técnica

1.1.1. Especificación

Se aplicó la **observación experimental microbiológico in vitro** para recoger información del diámetro de halo inhibitorio de la *Porphyromona gingivalis*.

1.1.2. Esquematización:

Variable respuesta	Procedimiento	Técnica
Diámetro del halo inhibitorio de <i>Porphyromona gingivalis</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Medición • Categorización 	Observación experimental microbiológica in vitro

1.1.3. Descripción de la técnica

a) Obtención de la Cepa de *Porphyromona Gingivalis*

Las cepas de *Porphyromona Gingivalis* serán obtenidas de la ATCC (American Time Culture Collections) por medio del Laboratorio GEN LAB PERÚ debidamente certificados.

b) Preparación de los medios de Cultivo

Se procederá a preparar en medio de Agar sangre. Se empleará un medio caldo base sangre, o agar nutritivo y agar que sirve para gelificar. Se emplearán placas Petri de tamaño estándar, almacenadas dentro de una bolsa estéril.

El peso total de 0.52 gramos de Caldo Nutritivo, 1.12 gramos de Agar gar, todo esto se mezclará junto a 40 ml de agua destilada en una Erlenmeyer de 200 ml de capacidad.

Se adicionará para el grupo tratamiento el extracto hidroalcohólico de la coca. Luego se pasará a esterilizar y solubilizar en una autoclave por 15 min a 121°C.

Tras el término de auto-clavado, se esperará a que enfríe a una temperatura de 45 °C aproximadamente para luego agregarle 2ml de sangre desfibrinada a cada Erlenmeyer y se homogenizará, posteriormente se verterá en las placas Petri, con un volumen aproximado de 20 ml por placa, tomando como referencia una placa con agua con esta cantidad.

c) Cultivo de Cepas ATCC.

Se empleará muestras liofilizadas de *Porphyromona Gingivalis* en tubos, donde se le adicionará 100 ul de CINA al 9 % estéril. Luego se trasladará a un tubo eppendorf con una micropipeta de 1000 ul.

Para el estudio se necesita agregar 100 ul de la muestra solubilizada para ser esparcida con una asa de drigalski de vidrio. Se almacenará en las respectivas bolsas de anaerobiosis, colocando en cada bolsa dos placas, junto a sus indicadores y luego irá a una estufa a 37°C.

d) Preparación del extracto de hoja coca

Las hojas colectadas se lavarán a fondo con agua destilada para quitar todas las partículas de polvo. El extracto se preparará de las hojas de coca en 100 ml de agua desionizada en autoclave en un frasco cónico de 250 ml. La mezcla se mantendrá durante 10 minutos en un baño de agua a 60°C. El color de la solución acuosa debe cambiar de acuoso a verde claro. El extracto se enfriará a temperatura ambiente, se almacenará a 4°C para su uso posterior.

e) Caracterización de la hoja de coca

Se analizará por medio de Microscopio Electrónico de barrido (MEB) Philips S- 505 del laboratorio de microscopía electrónica de la Universidad Nacional de Ingeniería.

f) Prueba de sensibilidad antimicrobiana

Método: susceptibilidad de difusión en discos (Kirby-Bauer)

Fundamento:

El método Kirby-Bauer es empleado para determinar la sensibilidad de un agente microbiano frente a un agente antimicrobiano (48). Este método comprende lo que se denomina un antibiograma frente a drogas específicas.

La forma de aplicación consiste en colocar sobre la superficie de una placa de agar Müller- Hilton una cantidad estandarizada de bacterias, sembrándolas en forma pareja para obtener después de la inoculación un “césped” bacteriano. A continuación, se colocan discos de papel filtro al agar en forma radial (49). Se incuba la placa a 37°C, luego se miden los halos de inhibición de desarrollo de acuerdo a la siguiente escala valorativa:

- De 0 a 6 mm: Resistente
- De 7 a 14 mm: Poco sensible
- De 15 a 21 mm: Sensible
- De 22 a más: Muy sensible

Procedimiento:

- La turbidez del medio debe ser semejante a la del estándar 0.5 de la escala de Mc Farland.
- Se sumergirá un hisopo de algodón estéril dentro de la suspensión del inóculo y se hará presión firme contra las paredes del tubo, para eliminar excesos del líquido.

- Se sembrará en agar sangre anaerobio, utilizando el método de siembra por agotamiento. Se colocará la tapa y se dejará secar.
- Seguidamente se embeberán los discos de sensibilidad de 5 mm de diámetro con 5 ul de la sustancia, se colocarán los discos (uno embebido extracto hidroalcohólico de la hoja de coca en diferentes porcentajes y los otros con sangre de grado) equidistantes en cada placa Petri.
- Las placas serán colocadas en la campana de anaerobiosis y se incubarán a 37°C. Se realizará la lectura de los halos de inhibición apenas se observe crecimiento bacteriano será a los 15 días con una regla milimetrada.
- Los resultados se anotarán en la ficha de recolección de datos y mediante registro fotográfico.

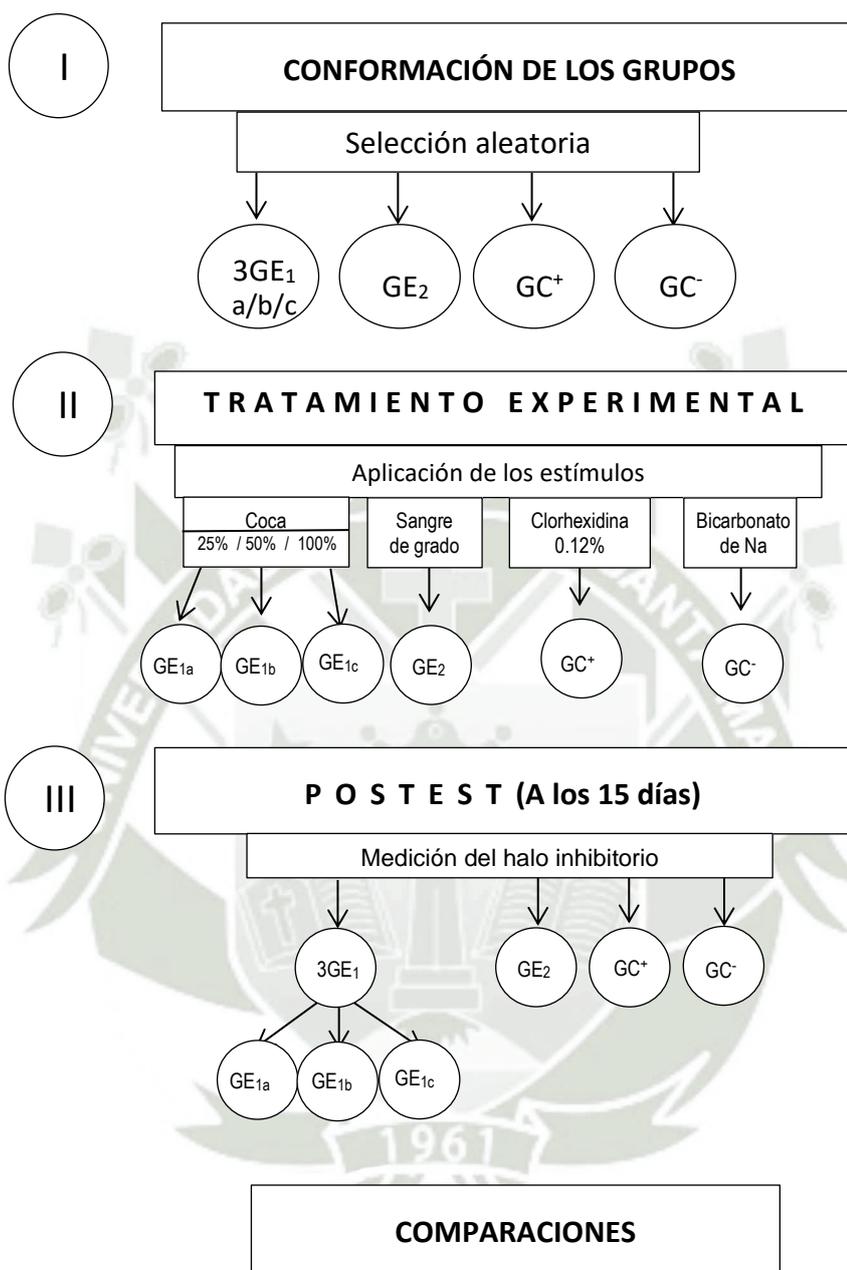
1.1.4. Diseño investigativo

El diseño investigativo es un ensayo laboratorial, randomizado simple, con cegamiento simple de la investigadora sin pretest y con postest único a los 15 días. Cuyo esquema básico es el que sigue:

a) Esquema básico

GRUPOS	PRETEST	TRATAMIENTO EXPERIMENTAL	POSTEST (15 días)
GE1a	-	Coca al 25%	O ₂
GE1b	-	Coca al 50%	O ₂
GE1c	-	Coca al 100%	O ₂
GE2	-	Sangre de grado	O ₂
GC+	-	Clorhexidina al 0.12%	O ₂
GC-	-	Bicarbonato de Na	O ₂

b) Diagramación Operativa



GRUPOS		POSTEST A LOS 15 DÍAS				
GE ₁	a	●	●	●	●	●
	b	●	●	●	●	●
	c	●	●	●	●	●
GE ₂		●	●	●	●	●
GC ⁺		●	●	●	●	●
GC ⁻		●	●	●	●	●

1.2. Instrumentos

1.2.1. Instrumento documental

a. Especificación

Se utilizó un instrumento documental, de tipo estructurado denominado **Ficha de Observación Experimental**.

b. Estructura

Variable investigativa	Indicadores	Ejes
Diámetro del halo inhibitorio de cepas certificadas de <i>Porphyromonas</i> <i>Gingivalis</i>	Dimensión	1
	Característica establecida	2
	Valor establecido	3

c. Modelo del instrumento

Figura en anexos de la tesis.

1.2.2 Instrumentos mecánicos / electrónicos

- Cámara de anaerobiosis
- Microscopio óptico
- Autoclave
- Computadora
- Cámara fotográfica
- Incubadora

- Micro-pipetas
- Placas Petri
- Microscopio electrónico de barrido
- Mechero

1.3. Materiales de verificación

- Medios de cultivo
- Guantes de examen
- Barbijo
- Campos estériles
- Agua destilada
- Cepa certificada de Porphyromona Gingivalis
- Generador de anaerobiosis
- Indicador de anaerobiosis
- Escala Mc Farland
- Agar Base sangre
- Mandil
- Papel crepado grado quirúrgico.

2. CAMPO DE VERIFICACIÓN

2.1. Ubicación espacial

a. Ámbito general

La investigación se realizó en el ámbito general de la UCSM.

b. Ámbito específico

Laboratorio de Microbiología de la Universidad Católica de Santa María.

2.2. Ubicación temporal

La investigación fue realizada entre los meses de enero y abril del 2017.

2.3. Unidades de estudio

La opción a asumirse es de grupos.

2.3.1 Identificación de los grupos:

Se seleccionaron aleatoriamente 6 grupos:

- GE_{1a}: recibe el extracto hidroalcohólico de coca al 25%
- GE_{1b}: recibe el extracto hidroalcohólico de coca al 50%
- GE_{1c}: recibe el extracto hidroalcohólico de coca al 100%
- GC⁺: recibe la clorhexidina al 0.12%
- GC⁻: recibe el bicarbonato de Na
- GE₂: recibe sangre de grado

2.3.2 Criterios para igualar los grupos

a. Igualación cualitativa

a.1. Criterios de inclusión

- Buena preparación del medio (20 ml por cada placa aprox.)
- El mismo medio de cultivo
- Aditivos similares
- El mismo ph
- La misma cantidad de inóculo para los tres grupos
- Misma temperatura y tiempo de incubación
- La misma atmósfera
- Buena formación del halo inhibitorio.

a.2. Criterios de Exclusión

- Placas Petri con preparación inadecuada o pasada del medio de cultivo.
- Diferente medio de cultivo
- Aditivos disímiles
- Diferentes condiciones ambientales; temperatura, pH atmósfera

- Diferente tiempo de incubación
- Observación de un halo deforme, de tal manera que no sea posible su medición.

2.3.3 Tamaño de los grupos

Número de réplicas.

$$n = \frac{Z^2 \cdot P(1 - P)}{(W/2)^2}$$

Datos:

- Z_{α} : 1.96 para un error α de 0.05
- P : 0.23 (proporción esperada)
- W : 0.30 (amplitud total del intervalo de confianza)

Reemplazando:

$$n = \frac{(1.96)^2(0.23)(1 - 0.23)}{(0.30/2)^2}$$

$$n = \frac{(3.84)(0.1771)}{0.0225} = \frac{0.680064}{0.0225}$$

$$n = 30.22$$

$$n = 30 \text{ réplicas totales}$$

2.3.4 Distribución de las réplicas por grupo

GRUPOS	Nº
GE _{1a}	5
GE _{1b}	5
GE _{1c}	5
GE ₂	5
GC ⁺	5
GC ⁻	5

3. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.1. Organización

- Autorización
- Coordinó con el Laboratorio de Microbiología de la UCSM
- Formalización de los grupos
- Prueba piloto

3.2. Recursos

a. Recursos humanos

- a.1. Investigadora : C.D. Alarcón Quispe Maura Lizbeth
a.2. Asesor : Dr. Anaya Muñoz Luis Alfredo

b. Recursos físicos

Disponibilidades y ambiente del Laboratorio de Microbiología de la UCSM.

c. Recursos económicos

Propios de la investigadora.

d. Recursos Institucionales

Universidad Católica de Santa María.

3.3. Prueba piloto

a. Tipo

Incluyente.

b. Muestra piloto

5% de cada grupo.

c. Recolección piloto:

Aplicación preliminar del instrumento a cada grupo.

4. ESTRATEGIA PARA MANEJAR LOS RESULTADOS

4.1. Plan de procesamiento de los datos

a. Tipo de procesamiento

Manual y computarizado, haciendo uso del programa Excel.

b. Operaciones del procesamiento

b.1. Clasificación

Se utilizó cuatro matrices de registro y control, de acuerdo a los estímulos utilizados.

b.2. Codificación

Se empleó codificación dígita de los indicadores.

b.3. Conteo

Fue necesario de matrices de recuento, de tipo electrónico.

b.4. Tabulación

Se confeccionaron tablas comparativas.

b.5. Graficación

Se elaboraron gráficas lineales y de barras.

4.2. Plan de análisis de datos

a. Tipo:

Cuantitativo, multifactorial, univariable.

b. Tratamiento Estadístico

VARIABLES	INDICADORES	TIPO	ESCALA DE MEDICIÓN	ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS	PRUEBA ESTADÍSTICA
DIÁMETRO DEL HALO INHIBITORIO	Dimensión	Cuantitativo	De razón	<ul style="list-style-type: none"> • \bar{X} • S • $X_{\text{máx}}$ • $X_{\text{mín}}$ • R 	ANOVA
	Característica establecida	Ordinal	Ordinal	<ul style="list-style-type: none"> • Frecuencias absolutas • Frecuencias porcentuales 	
	Valor establecido				



CAPÍTULO III
RESULTADOS

PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LOS DATOS

TABLA N° 1

Eficacia del extracto hidroalcohólico de coca a diferentes concentraciones en el diámetro del halo inhibitorio de las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*

CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO DE COCA	N°	DIÁMETRO DEL HALO				
		\bar{X} /mm	S	Xmáx	Xmín	R
Al 25%	5	6.0	0	6	6	0
Al 50%	5	10.2	1.21	11	9	2
Al 100%	5	16.6	1.48	18	15	3

Fuente: Elaboración personal (Matriz N° 1).

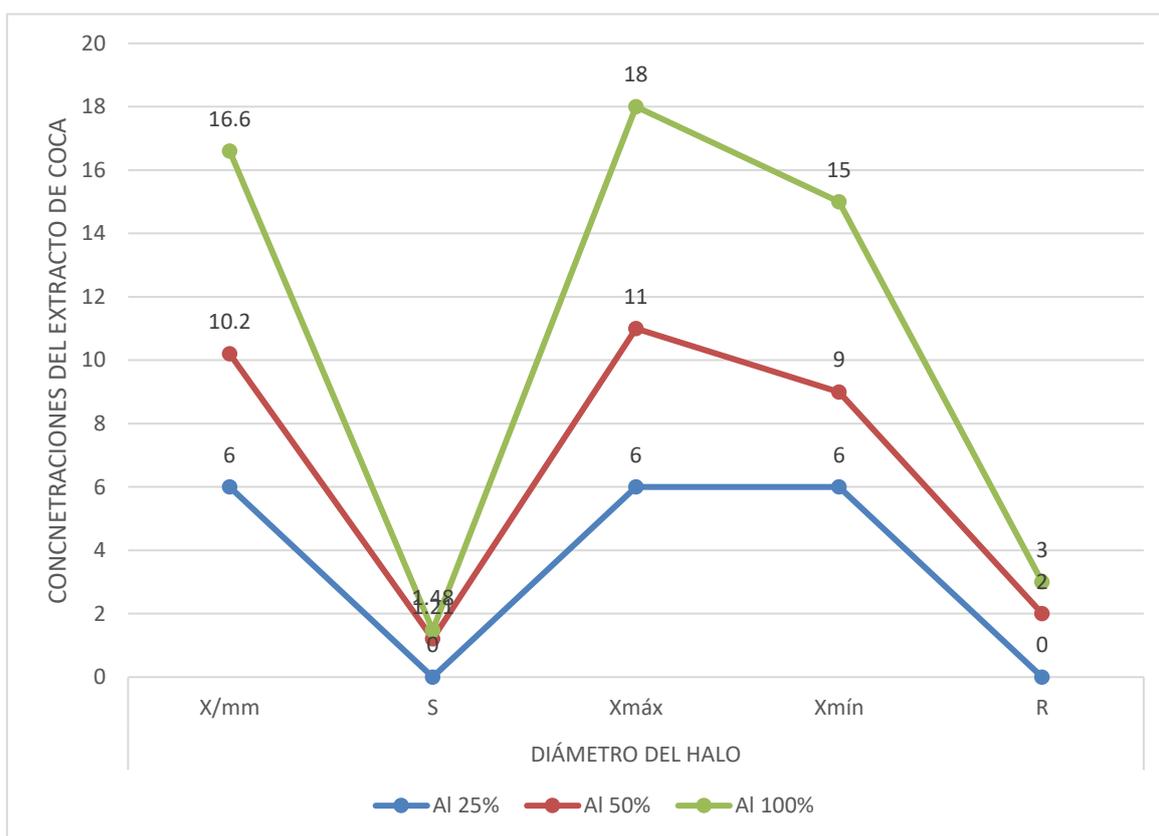
Leyenda:

- \bar{X} : Promedio
- S: Desviación estándar
- Xmáx: Valor máximo
- Xmín: Valor mínimo
- R: Rango

El extracto hidroalcohólico de coca al 25%, 50% y 100% produjo en la *Porphyromona gingivalis* halos inhibitorios respectivos de 6 mm, 10.2 mm. y 16.6 mm de diámetro. Lo que sugiere que cuanto mayor es la concentración del extracto, mayor es la amplitud del halo desarrollado en el disco. De otro lado, la dispersión de los valores de desviación estándar es nula, al 25%; es homogénea al 50%; y, algo heterogénea al 100%.

GRÁFICO N° 1

Eficacia del extracto hidroalcohólico de coca a diferentes concentraciones en el diámetro del halo inhibitorio de las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*



Fuente: Elaboración personal (Matriz N° 1).

TABLA Nº 2

Eficacia del extracto hidroalcohólico de coca a diferente concentración en la característica establecida del halo inhibitorio de las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*

CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO DE COCA	CARACTERÍSTICA DEL HALO								TOTAL	
	Resistente		Poco sensible		Sensible		Muy sensible			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Al 25%	5	100.00							5	100.00
Al 50%			5	100.00					5	100.00
Al 100%					5	100.00			5	100.00

Fuente: Elaboración personal (Matriz Nº 1).

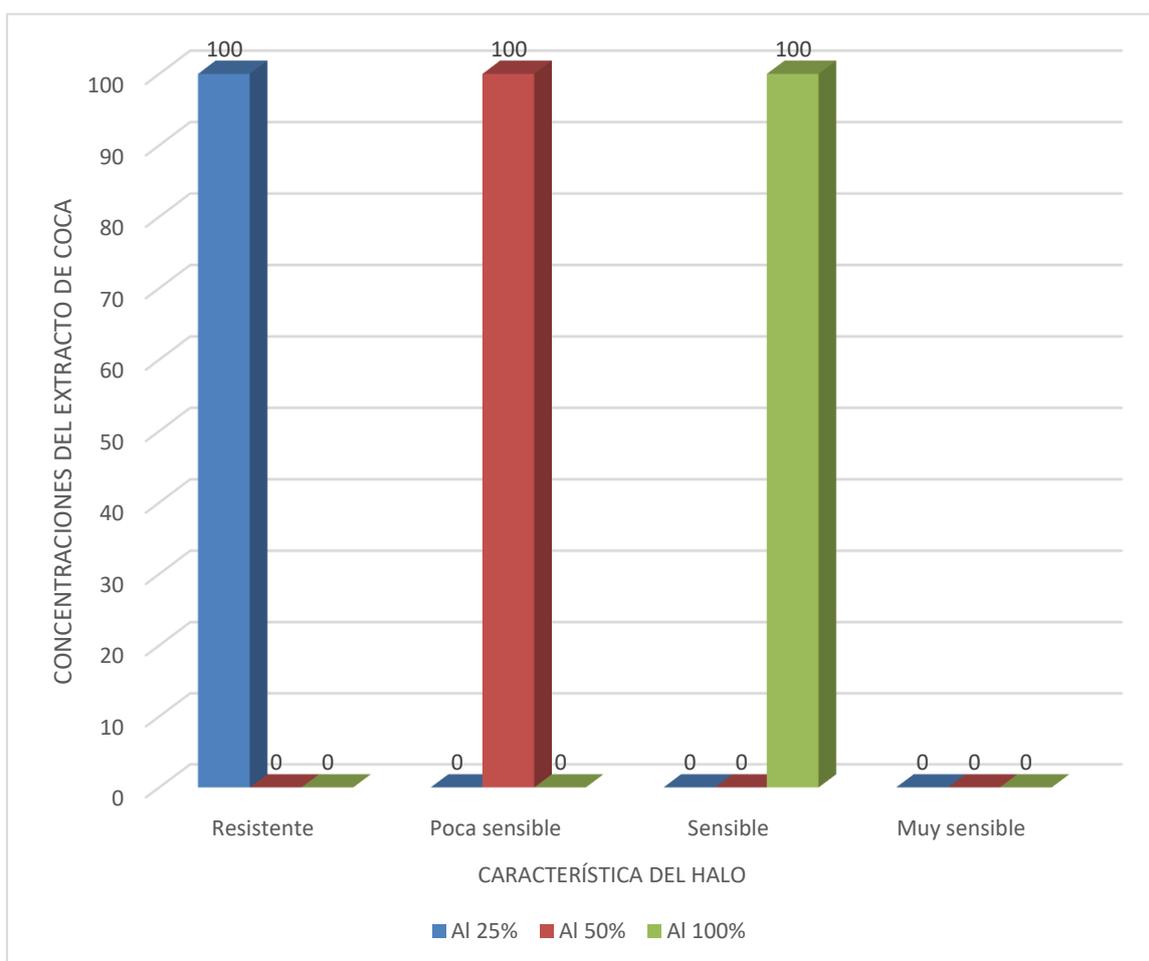
REFERENCIA VALORATIVA

- Resistente (-): 0 a 6 mm
- Poco sensible (+): 7 a 14 mm
- Sensible (++) : 15 a 21 mm
- Muy sensible (+++) : 22 a más mm

Concretamente la *Porphyromona gingivalis* fue resistente al extracto hidroalcohólico de coca al 25%; poco sensible al 50%; y sensible al 100%. De modo, que se puede establecer o colegir una relación directa entre la susceptibilidad de la bacteria y la concentración de este componente.

GRÁFICO Nº 2

Eficacia del extracto hidroalcohólico de coca a diferente concentración en la característica establecida del halo inhibitorio de las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*



Fuente: Elaboración personal (Matriz Nº 1).

TABLA Nº 3

Eficacia del extracto hidroalcohólico de coca a diferente concentración en el valor establecido del halo inhibitorio de *Porphyromona gingivalis*

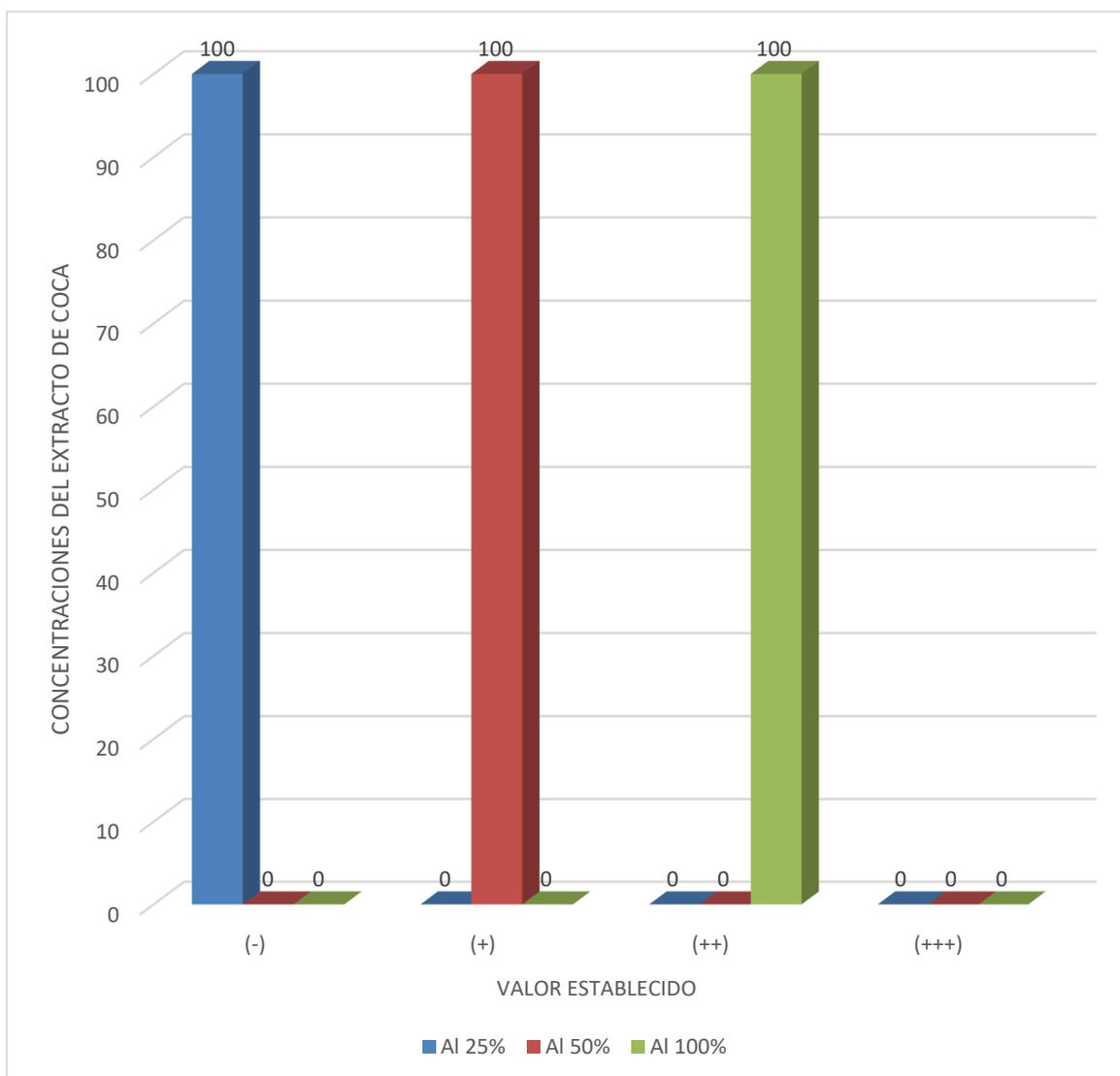
CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO DE COCA	VALOR ESTABLECIDO								TOTAL	
	(-)		(+))		(++)		(+++)			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Al 25%	5	100.00							5	100.00
Al 50%			5	100.00					5	100.00
Al 100%					5	100.00			5	100.00

Fuente: Elaboración personal (Matriz Nº 1).

La reacción de la *Porphyromona gingivalis* fue negativa (-) al extracto hidroalcohólico de coca al 25%; simplemente positiva (+) al 50%; doblemente positiva al 100%; y, triplemente positiva al 100%.

GRÁFICO N° 3

Eficacia del extracto hidroalcohólico de coca a diferente concentración en el valor establecido del halo inhibitorio de *Porphyromona gingivalis*



Fuente: Elaboración personal (Matriz N° 1).

TABLA Nº 4

Eficacia de la sangre de grado al 100% en el diámetro del halo inhibitorio de las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*

CONCENTRACIÓN DE LA SANGRE DE GRADO	Nº	DIÁMETRO DEL HALO				
		\bar{X} /mm	S	Valor máx.	Valor mín,	R
100%	5	6.0	0	6	6	0

Fuente: Elaboración personal (Matriz Nº 2).

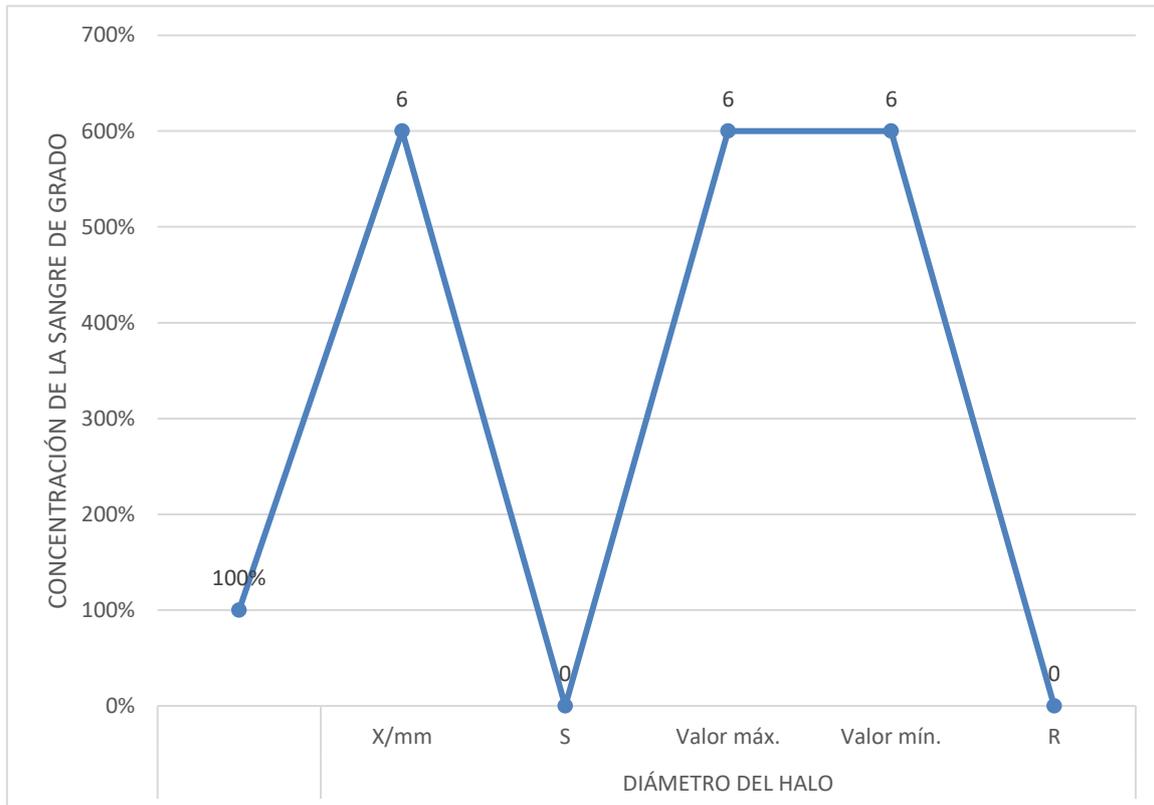
Leyenda:

- \bar{X} : Promedio
- S: Desviación estándar
- **Valor máx**: Valor máximo
- **Valor mín**: Valor mínimo
- R: Rango

La exposición de la *Porphyromona gingivalis* a la sangre de grado generó un halo inhibitorio de 6 mm. en 5 repeticiones experimentales, diámetro que se interpreta como resistente en la escala valorativa empleada. La desviación estándar de 0, sugiere que en las 5 réplicas se produjo un halo inhibitorio del mismo diámetro.

GRÁFICO N° 4

Eficacia de la sangre de grado al 100% en el diámetro del halo inhibitorio de las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*



Fuente: Elaboración personal (Matriz N° 2).

TABLA N° 5

Eficacia de la sangre de grado al 100% en la característica establecida del halo inhibitorio para las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*

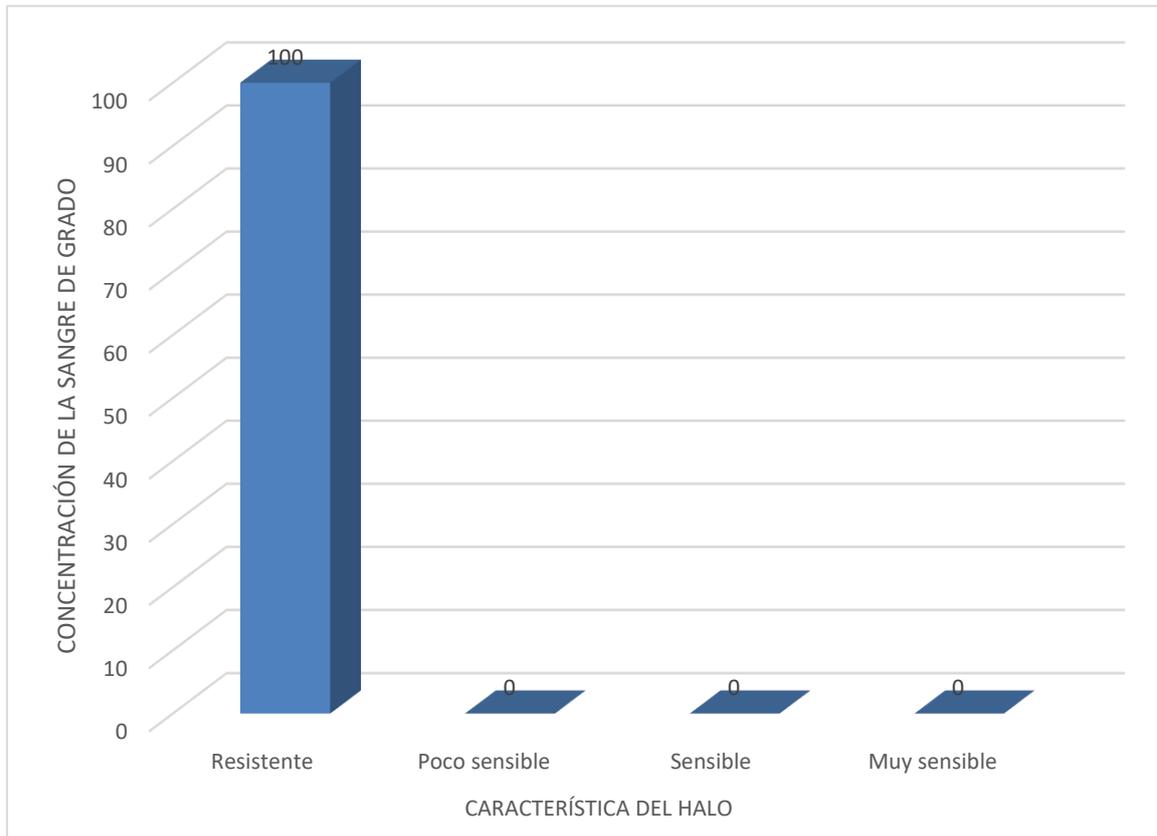
CONCENTRACIÓN DE LA SANGRE DE GRADO	CARACTERÍSTICA DEL HALO								TOTAL	
	Resistente		Poco sensible		Sensible		Muy sensible			
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
100%	5	100.00							5	100.00

Fuente: Elaboración personal (Matriz N° 2).

La *Porphyromona gingivalis* acusó resistencia a la sangre de grado en las 5 réplicas experimentales realizadas.

GRÁFICO Nº 5

Eficacia de la sangre de grado al 100% en la característica establecida del halo inhibitorio para las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*



Fuente: Elaboración personal (Matriz Nº 2).

TABLA Nº 6

Eficacia de la sangre de grado al 100% en el valor establecido del halo inhibitorio para las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*

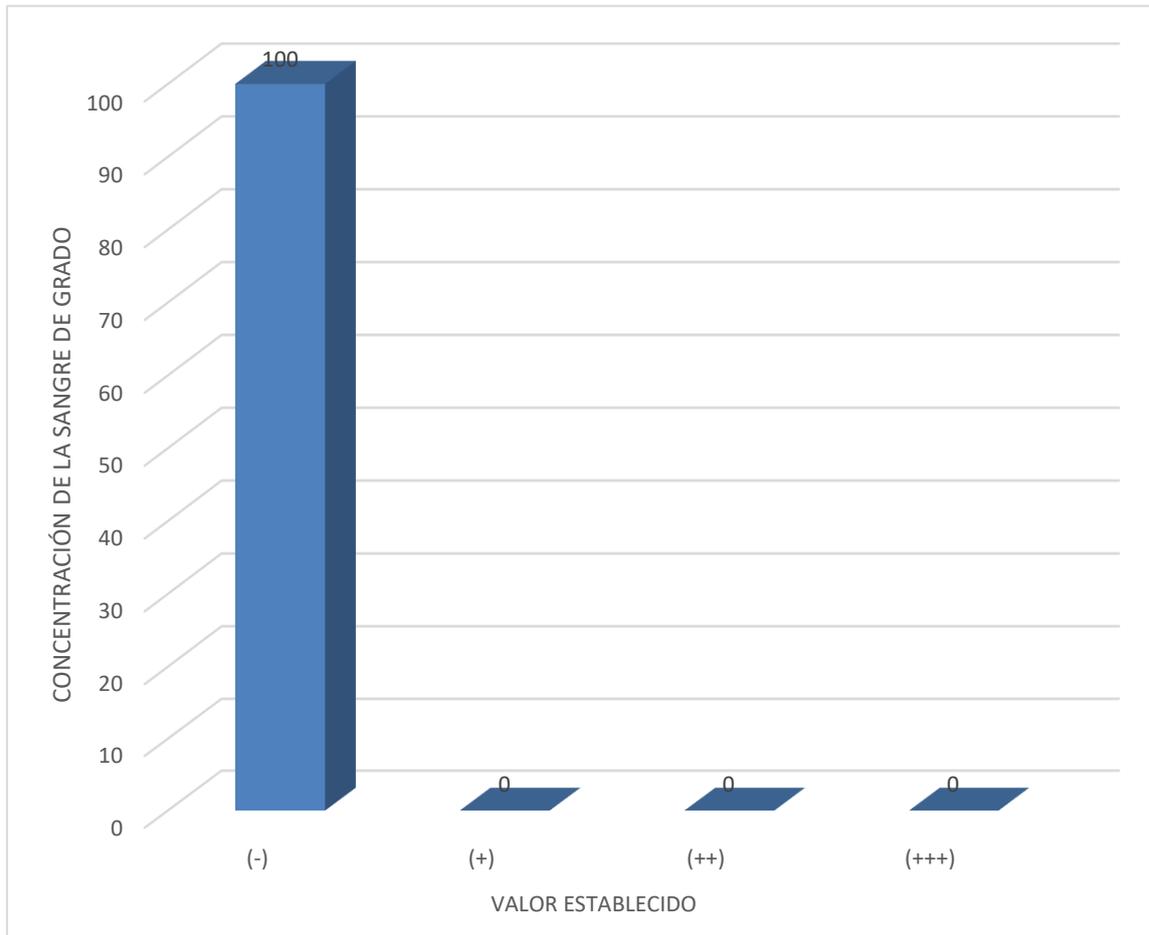
CONCENTRACIONES DE LA SANGRE DE GRADO	VALOR ESTABLECIDO								TOTAL	
	(-)		(+)		(++)		(+++)			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
100%	5	100.00							5	100.00

Fuente: Elaboración personal (Matriz Nº 2).

La sangre de grado a la concentración del 100% mostró una eficacia negativa en la inhibición de la *Porphyromona gingivalis* en las 5 repeticiones efectuadas.

GRÁFICO N° 6

Eficacia de la sangre de grado al 100% en el valor establecido del halo inhibitorio para las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*



Fuente: Elaboración personal (Matriz N° 2).

TABLA Nº 7

Eficacia del gluconato de clorhexidina al 0.12% en el diámetro del halo inhibitorio para las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*

CONCENTRACIÓN DE LA CLORHEXIDINA	Nº	DIÁMETRO DEL HALO				
		\bar{X} /mm	S	Valor máx.	Valor mín,	R
0.12%	5	31.2	3.21	34	29	5

Fuente: Elaboración personal (Matriz Nº 3).

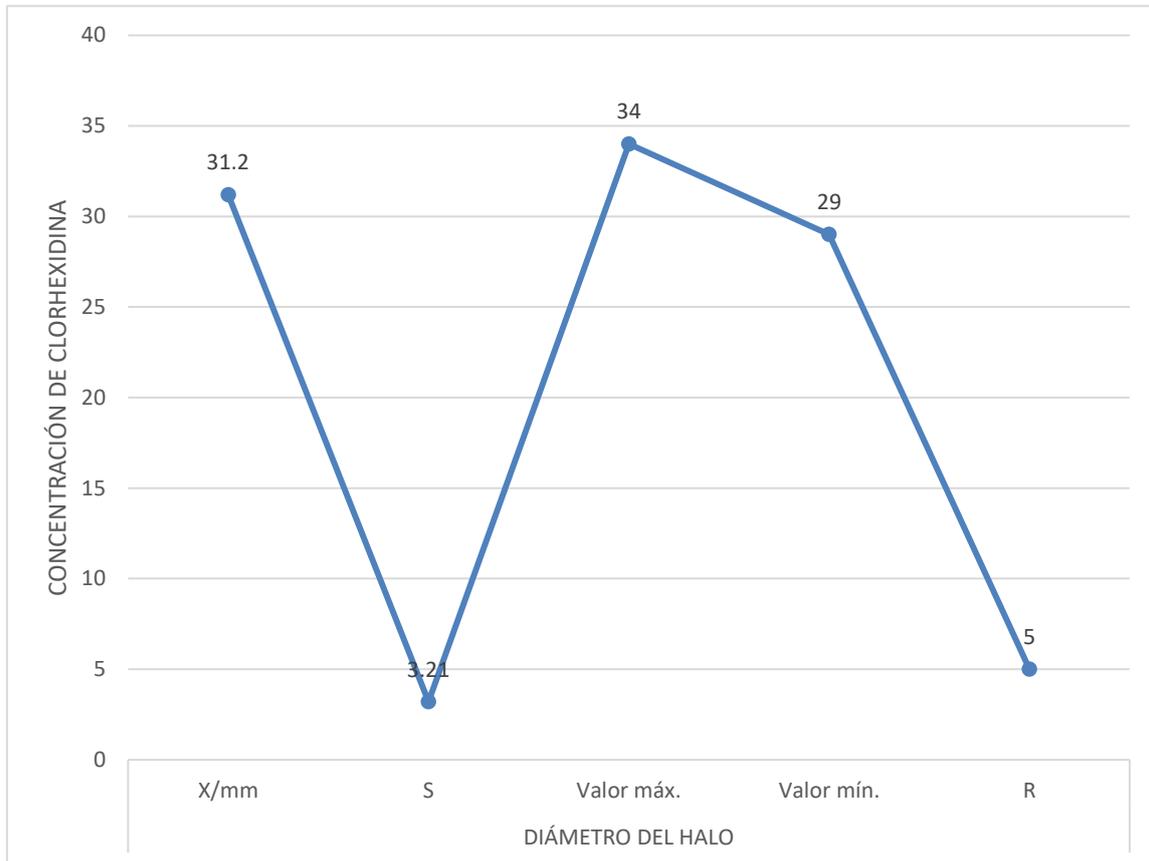
Leyenda:

- \bar{X} : Promedio
- S: Desviación estándar
- **Valor máx**: Valor máximo
- **Valor mín**: Valor mínimo
- R: Rango

El gluconato de clorhexidina al 0.12% produjo en la *Porphyromona gingivalis* un halo inhibitorio promedio de 31.2%, ciertamente grande, que, de acuerdo a la escala valorativa utilizada, corresponde a una calificación de muy sensible al fármaco empleado en 5 réplicas. Llama la atención el rango de 5 y desviación estándar de 3.21, que sugieren una evidente heterogeneidad de los datos.

GRÁFICO N° 7

Eficacia del gluconato de clorhexidina al 0.12% en el diámetro del halo inhibitorio para las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*



Fuente: Elaboración personal (Matriz N° 3).

TABLA Nº 8

Eficacia de gluconato de clorhexidina al 0.12% en la característica establecida del halo inhibitorio para cepas

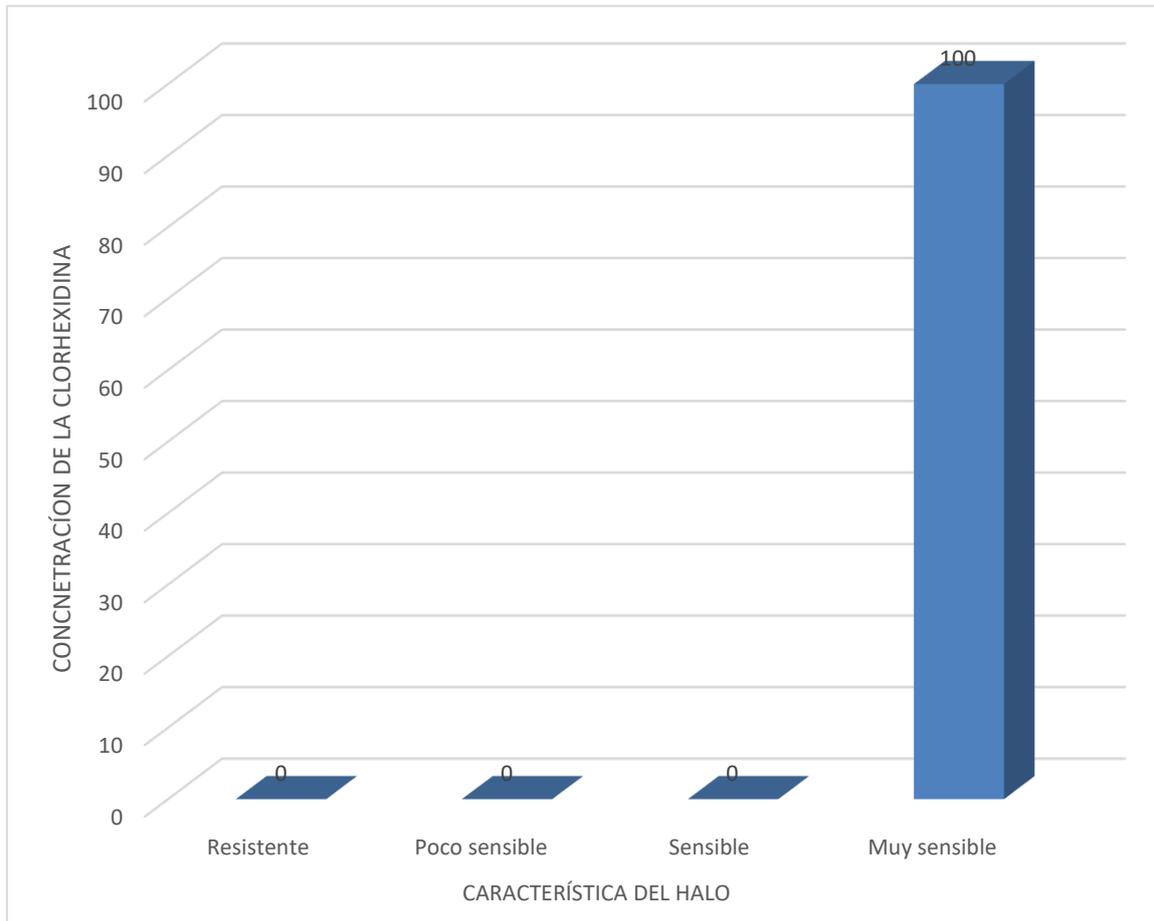
CONCENTRACIÓN DE LA CLORHEXIDINA	CARACTERÍSTICA DEL HALO								TOTAL	
	Resistente		Poco sensible		Sensible		Muy sensible			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
0.12%							5	100.00	5	100.00

Fuente: Elaboración personal (Matriz Nº 3).

La *Porphyromona gingivalis* fue muy sensible al gluconato de clorhexidina al 0.12% en las 5 reiteraciones efectuadas empleando este fármaco.

GRÁFICO N° 8

Eficacia de gluconato de clorhexidina al 0.12% en la característica establecida del halo inhibitorio para cepas



Fuente: Elaboración personal (Matriz N° 3).

TABLA Nº 9

Eficacia del gluconato de clorhexidina al 0.12% en el valor establecido del halo inhibitorio para las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*

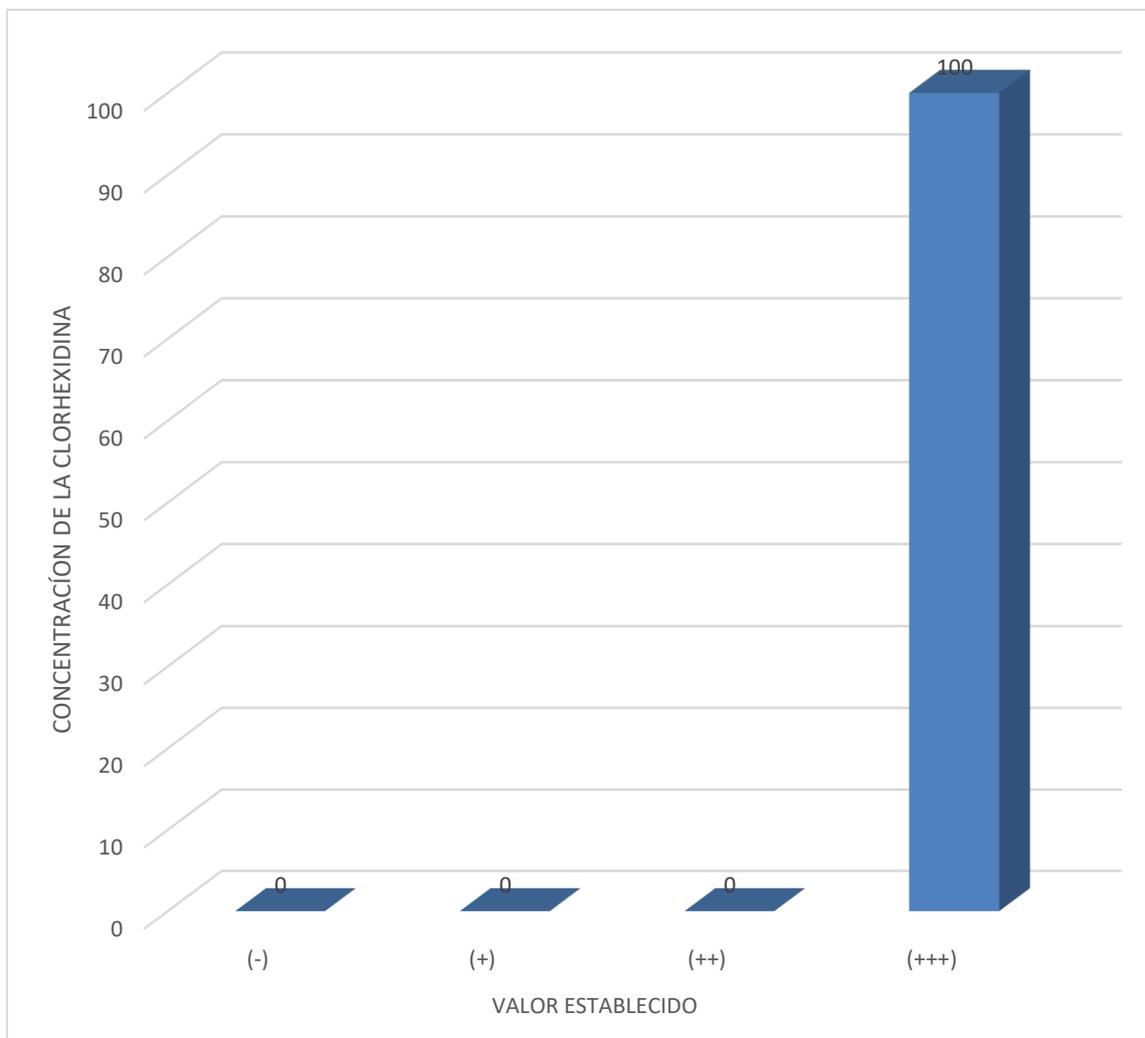
CONCENTRACIÓN DE LA CLORHEXIDINA	VALOR ESTABLECIDO								TOTAL	
	(-)		(+)		(++)		(+++)			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
0.12%							5	100.00	5	100.00

Fuente: Elaboración personal (Matriz Nº 3).

Consecuentemente el gluconato de clorhexidina fue especialmente eficaz en su propósito inhibitorio; y la *Porphyromona* acusó una fuerte susceptibilidad, expresada como triplemente positiva (+++).

GRÁFICO N° 9

Eficacia del gluconato de clorhexidina al 0.12% en el valor establecido del halo inhibitorio para las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*



Fuente: Elaboración personal (Matriz N° 3).

TABLA N° 10

Eficacia del bicarbonato de sodio en el diámetro del halo inhibitorio para las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*

BICARBONATO DE SODIO	N°	DIÁMETRO DEL HALO				
		\bar{X} /mm	S	Valor máx.	Valor mín,	R
	5	6	0	6	6	0

Fuente: Elaboración personal (Matriz N° 4).

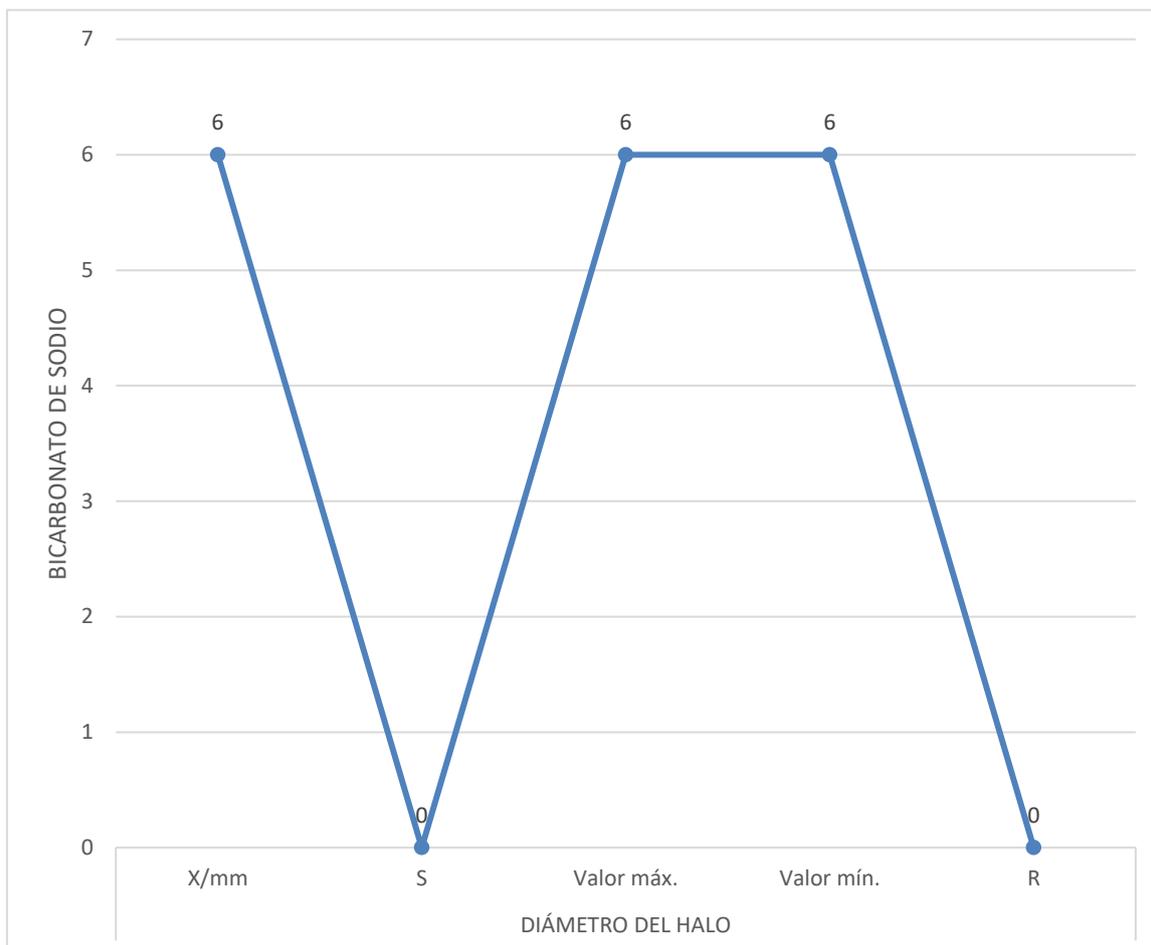
Leyenda:

- \bar{X} : Promedio
- S: Desviación estándar
- *Valor máx*: Valor máximo
- *Valor mín*: Valor mínimo
- R: Rango

El bicarbonato de sodio aplicado a la *Porphyromona gingivalis* generó un halo inhibitorio promedio de 6 mm de diámetro en las 5 réplicas realizadas, registro que es compatible con resistencia bacteriana, según la escala valorativa empleada.

GRÁFICO N° 10

Eficacia del bicarbonato de sodio en el diámetro del halo inhibitorio para las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*



Fuente: Elaboración personal (Matriz N° 4).

TABLA N° 11

Eficacia del bicarbonato de sodio en la característica establecida del halo inhibitorio para las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*

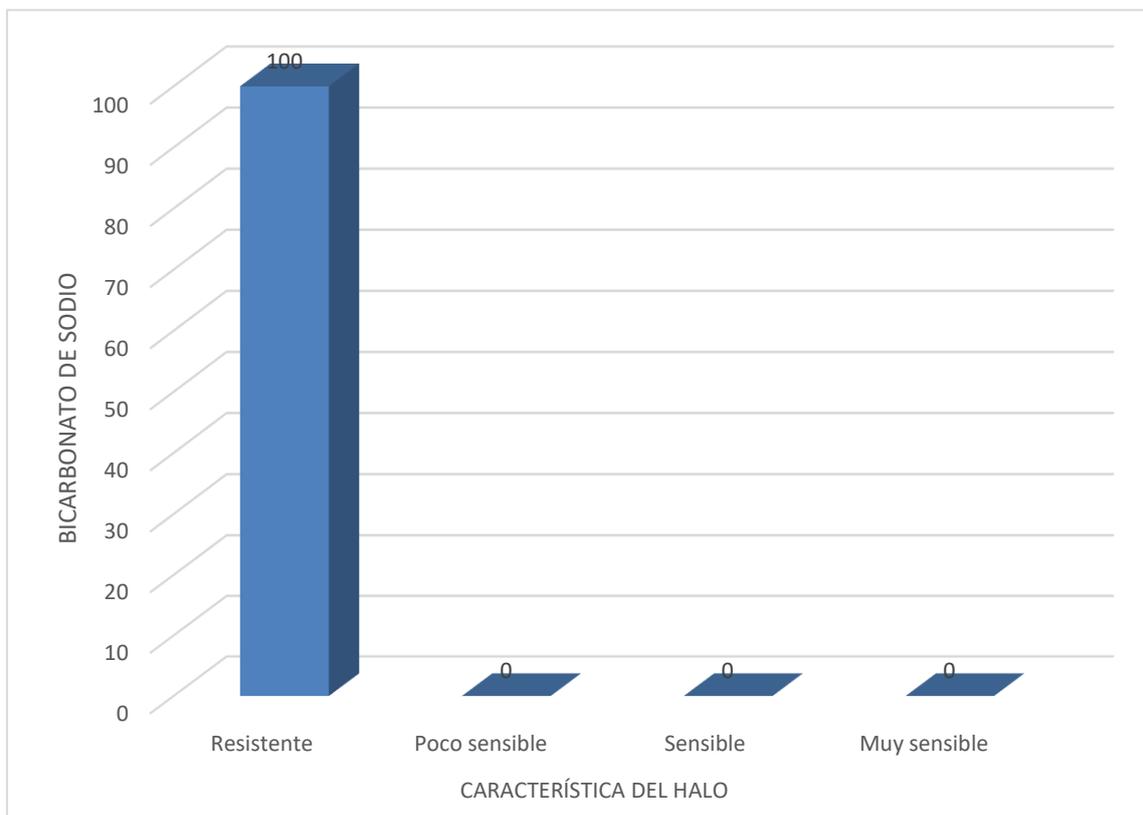
BICARBONATO DE SODIO	CARACTERÍSTICA DEL HALO								TOTAL	
	Resistente		Poco sensible		Sensible		Muy sensible			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
	5	100.00							5	100.00

Fuente: Elaboración personal (Matriz N° 4).

La *Porphyromona gingivalis* fue resistente al bicarbonato de sodio en las 5 réplicas efectuadas.

GRÁFICO N° 11

Eficacia del bicarbonato de sodio en la característica establecida del halo inhibitorio para las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*



Fuente: Elaboración personal (Matriz N° 4).

TABLA N° 12

Eficacia del bicarbonato de sodio en el valor establecido del halo inhibitorio para las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*

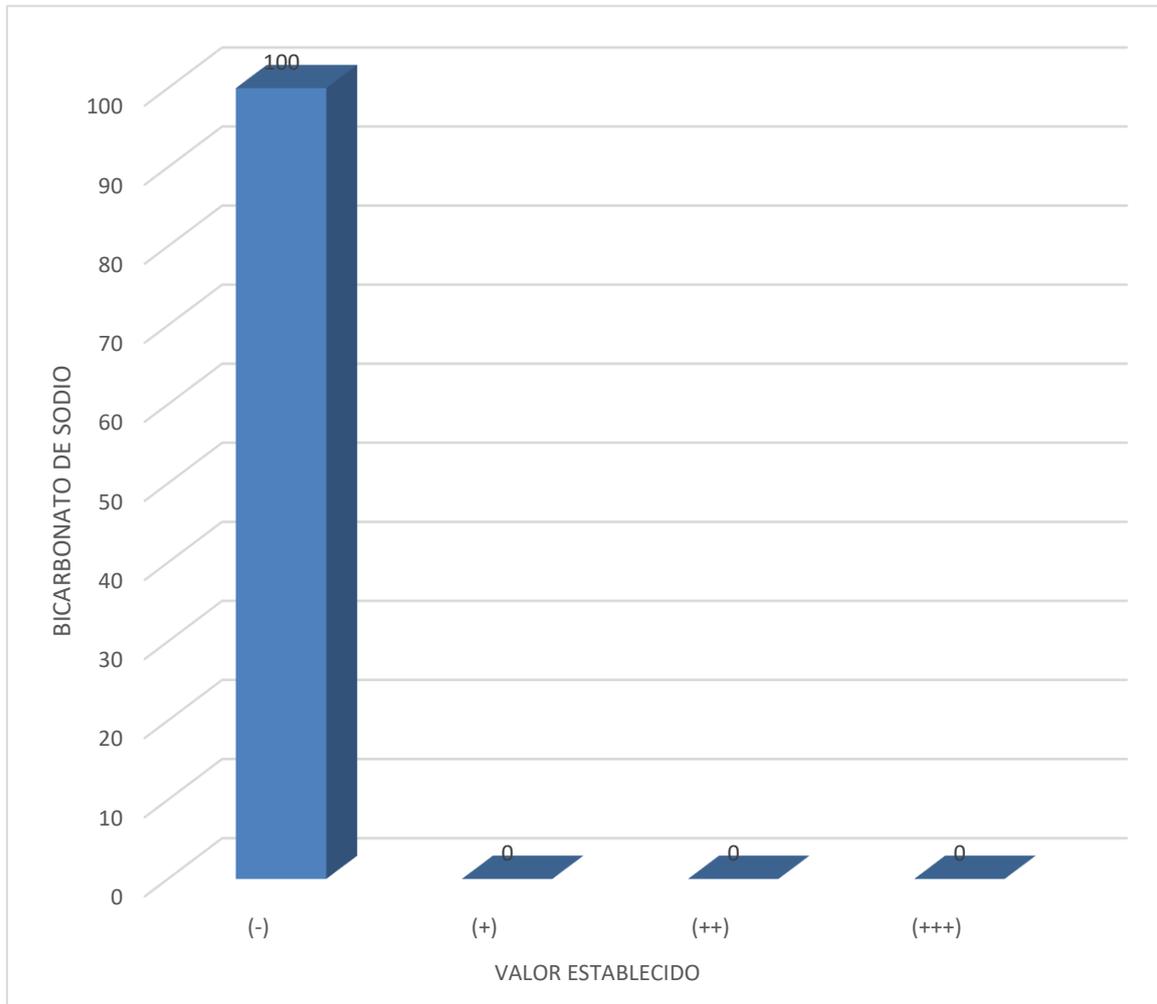
BICARBONATO DE SODIO	VALOR ESTABLECIDO								TOTAL	
	(-)		(+)		(++)		(+++)			
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
	5	100.00							5	100.00

Fuente: Elaboración personal (Matriz N° 4).

Respecto al valor establecido, la *Porphyromona gingivalis* acusó negativamente en su respuesta al bicarbonato de sodio en las 5 reiteraciones efectuadas.

GRÁFICO N° 12

Eficacia del bicarbonato de sodio en el valor establecido del halo inhibitorio
para las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*



Fuente: Elaboración personal (Matriz N° 4).

TABLA Nº 13

Eficacia comparativa del extracto hidroalcohólico de coca a diferente concentración, de la sangre de grado, de la clorhexidina y del bicarbonato de sodio en el diámetro del halo inhibitorio para las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*

TRATAMIENTOS		Nº	DIÁMETRO DEL HALO		
			DIÁMETRO	CARACTERÍSTICA ESTABLECIDA	VALOR ESTABLECIDO
			\bar{X} /mm		
Coca	Al 25%	5	6.0	Resistente	(-)
	Al 50%	5	10.2	Poco sensible	(+)
	Al 100%	5	16.6	Sensible	(++)
Sangre de grados		5	6.0	Resistente	(-)
Clorhexidina		5	31.2	Muy sensible	(+++)
Bicarbonato de sodio		5	6.0	Resistente	(-)

p: 0.000 < α : 0.05

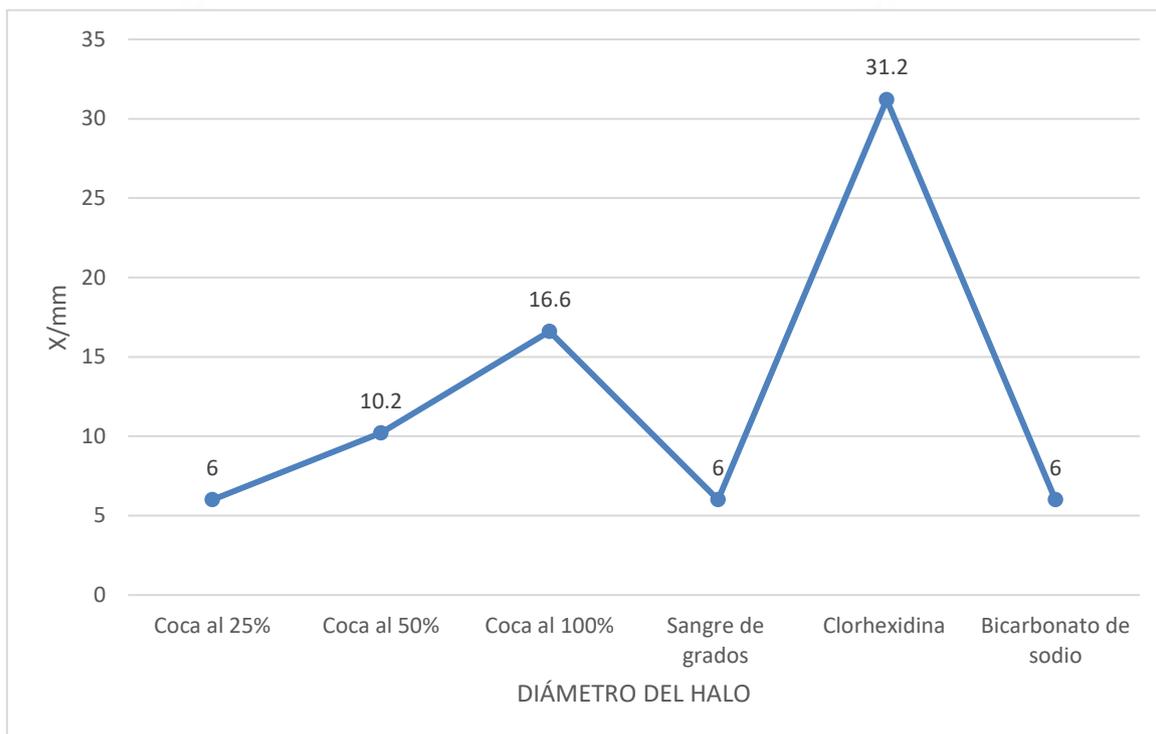
Fuente: Elaboración personal (Matrices Nros. 01, 02, 03 y 04).

Acorde a la amplitud de los halos inhibitorios desarrollados en las placas estudiadas, la *Porphyromona gingivalis* fue muy sensible al gluconato de clorhexidina al 0.12%; sensible al extracto hidroalcohólico de coca al 100%; poco sensible a este componente, pero al 50%; y, resistente al extracto de coca al 25%, a la sangre de grado y al bicarbonato de sodio. De lo cual se colige que cuanto más se amplía el diámetro del halo inhibitorio formado, tanto más sensible es la bacteria al fármaco empleado.

De acuerdo a ANOVA, existe diferencia estadística significativa en el diámetro del halo inhibitorio para cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*, utilizando el extracto hidroalcohólico de coca a diferente concentración, sangre de grado, gluconato de clorhexidina al 0.12% y bicarbonato de sodio.

GRÁFICO N° 13

Eficacia comparativa del extracto hidroalcohólico de coca a diferente concentración, de la sangre de grado, de la clorhexidina y del bicarbonato de sodio en el diámetro del halo inhibitorio para las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*



Fuente: Elaboración personal (Matriz N° 4).

DISCUSIÓN

La prueba ANOVA indicó haber diferencia estadística significativa del efecto del extracto hidroalcohólico de coca al 25%, 50% y 100%; de la sangre de grado, del gluconato de clorhexidina al 0.12% y del bicarbonato de sodio, en el sentido de que, la *Porphyromona gingivalis* fue muy sensible a la clorhexidina, sensible al extracto hidroalcohólico al 100%; poco sensible a este componente al 50%; y, resistente al extracto de coca al 25%, a la sangre de grado y al bicarbonato de sodio, en 5 reiteraciones experimentales por cada fármaco, totalizando 30 réplicas.

Ungaro (1972) estudio en un grupo de 500 chacchadores de la hoja de coca, que la prevalencia de lesiones cariosas era de un 68% (15).

Gonzales (2018) reporta que el extracto etanólico de propóleo al 20% medido a las 48 horas presenta una eficacia antibacteriana frente a cepas de *Porphyromonas gingivalis* semejante a la eficacia antibacteriana de la clorhexidina (0.12%). Concluyendo que existe eficacia del propóleo y podría usarse a futuro como medicina natural para el tratamiento de la enfermedad periodontal, para ello se necesita realizar investigaciones utilizándolo para poder confirmar esta posibilidad (42).

Sánchez (2018) reportó que la generación de halos inhibitorios de pequeña longitud para tres concentraciones de extracto etanólico, y la generación de halos de mayor longitud para el gluconato de clorhexidina al 2%; con lo que se llegó a la conclusión que el tratamiento más eficaz es del gluconato de Clorhexidina al 2% en volumen de 60 uL, porque nos proporciona un mayor diámetro de halo de inhibición (43).

Morrilo & Balseca (2018) informó que el aceite esencial de CC mostró un halo de inhibición de 14mm, 12mm y 10mm a concentraciones de 100%, 50% y 75% respectivamente. La Clorhexidina 0,12% se observó valores de inhibición de 17mm. Se observó diferencia estadísticamente significativa entre los grupos (<0.001). Concluyendo que el aceite esencial de CC al 100%, 50% y 75% demostraron ser sensibles, frente a la *Porphyromona Gingivalis* (44).

Quichca (2016) concluyó que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 50 %, 100% son menos eficaces que la Clorhexidina al 0.12% en la inhibición del crecimiento de *Porphyromonas Gingivalis* a las 24 y 48 horas (46).

Carhuaricra (2015) informo que los datos fueron procesados en el programa SPSS y se aplicó la prueba estadística de T de Student. Concluyéndose que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) tuvo efecto inhibitor frente a *Porphyromonas gingivalis* y que la clorhexidina al 0,12% tuvo un mayor efecto inhibitor que el aceite esencial frente a esta cepa bacteriana (47).



CONCLUSIONES

PRIMERA

El extracto hidroalcohólico de coca al 25%, 50% y 100% generó de modo respectivo un halo inhibitorio entorno a la *Porphyromona gingivalis* de 6 mm, 10.2 mm y 16.6 mm de diámetro, caracterizado consecutivamente como resistente (-), poco sensible (+), y sensible (++).

SEGUNDA

La sangre de grado produjo en la *Porphyromona gingivalis* un halo inhibitorio de 6 mm, caracterizado como resistente (-).

TERCERA

El gluconato de clorhexidina generó en la *Porphyromona gingivalis* un halo inhibitorio promedio de 31.2 mm caracterizado como muy sensible (+++).

CUARTA

La *Porphyromona gingivalis* resultó muy sensible al gluconato de clorhexidina al 0.12%; sensible al extracto hidroalcohólico de coca al 100%; poco sensible a este componente al 50%; y, resistente al extracto de coca al 25%, a la sangre de grado y al bicarbonato de sodio, que actuó como control negativo. ANOVA indica haber diferencia estadística en el diámetro del halo inhibitorio de la *Porphyromona gingivalis* generado por los componentes anteriores.

QUINTA

Consecuentemente, se rechaza la hipótesis nula de homogeneidad y se acepta la hipótesis alterna de diferencia, con un nivel de significación de 0.05.

RECOMENDACIONES

Se sugiere a nuevos tesisistas:

1. Replicar la investigación en grupos más numerosos, a fin de establecer similitudes o divergencias con el presente estudio.
2. Hacer pruebas de susceptibilidad de la *Prevotella intermedia* ante el extracto hidroalcohólico de coca, la sangre de grado y el gluconato de clorhexidina, con el objeto de establecer rangos o niveles de eficacia de estos productos en este propósito.
3. Investigar el nivel de sensibilidad de *actinomyceten comitans* a los estímulos mencionados, toda vez que es una de las bacterias más prevalentes de la periodontitis agresiva.
4. Estudiar el efecto del extracto de coca, crotón draconoide y clorhexidina en el nivel de susceptibilidad del *Bacteroides forsythys*, toda vez que como los anteriores, constituyen un candidato razonable como agente etiológico de enfermedades periodontales destructivas.
5. Efectuar una revisión sistemática o metaanálisis respecto al verdadero efecto de digluconato de clorhexidina en la susceptibilidad del *Antinobacillus actinomyceten conntans*, la *Porphyromona gingivalis*, la *Prevotella intermedia* y el *Bacteroides forsythus*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

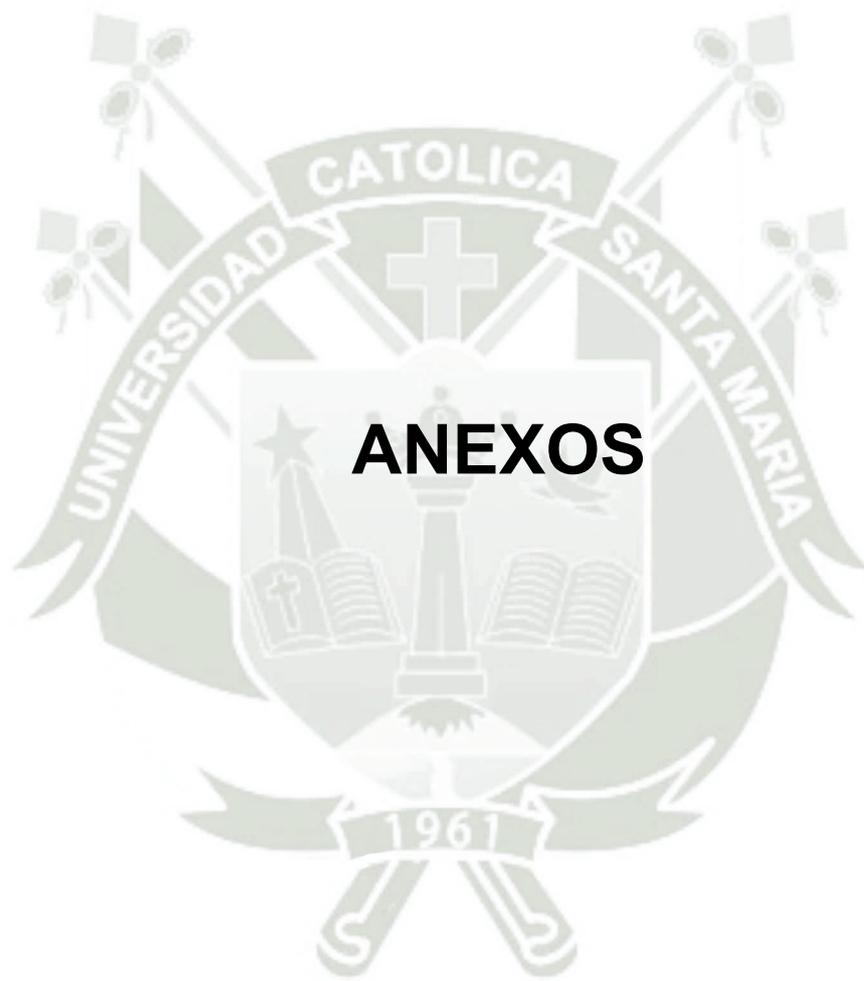
1. Ministerio de Salud. El 90.4% de los peruanos tiene caries dental. [Online].; 2019. Available from: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/noticias/45475-el-90-4-de-los-peruanos-tiene-caries-dental>.
2. Galindo Bonilla A, Fernández Alonso JL. Plantas de coca en Colombia. Discusión crítica sobre la taxonomía de las especies cultivadas del género *Erythroxylum* P. Browne (Erythroxylaceae). Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales). 2020; 34(133): p. 455-465.
3. Ramos Clemente AW. Actividad antibacteriana del extracto de *Erythroxylum coca* sobre *Porphyromonas Gingivalis*, estudio in vitro. Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista. Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2018.
4. Borghelli R. Lesiones de la mucosa bucal por el uso de hojas de coca en el grupo etario de varones de 20 años de la provincia de Jujuy (Argentina). Revista de la Asociación Odontológica Argentina. 1973; 61(7).
5. Terran M, Sandagorda A. Aspectos socioculturales del consumo de la coca. Cocaína 1980-Actas del Seminario Internacional sobre Aspectos Médicos y Sociológicos de la Coca y la Cocaína. Primera ed. Lima, Perú: Editorial F.R. Jeri; 1980.
6. Carter W, Mamani M, Parkenson P. Coca En Bolivia. Primera ed. Miami: Universidad de Florida; 1980.
7. INGENIERIA. Ager Ryu. Servicios Integrales del Agro. [Online].; 2018 [cited 2020 enero 1. Available from: <http://www.arsenalterapeutico.com/2015/10/09/coca-erythroxylum-coca/>.
8. Burchard R. Una nueva perspectiva sobre la masticación de la coca. América Indígena. 1978 octubre-diciembre; XXXVIII(4): p. Instituto Indigenista Interamericano.

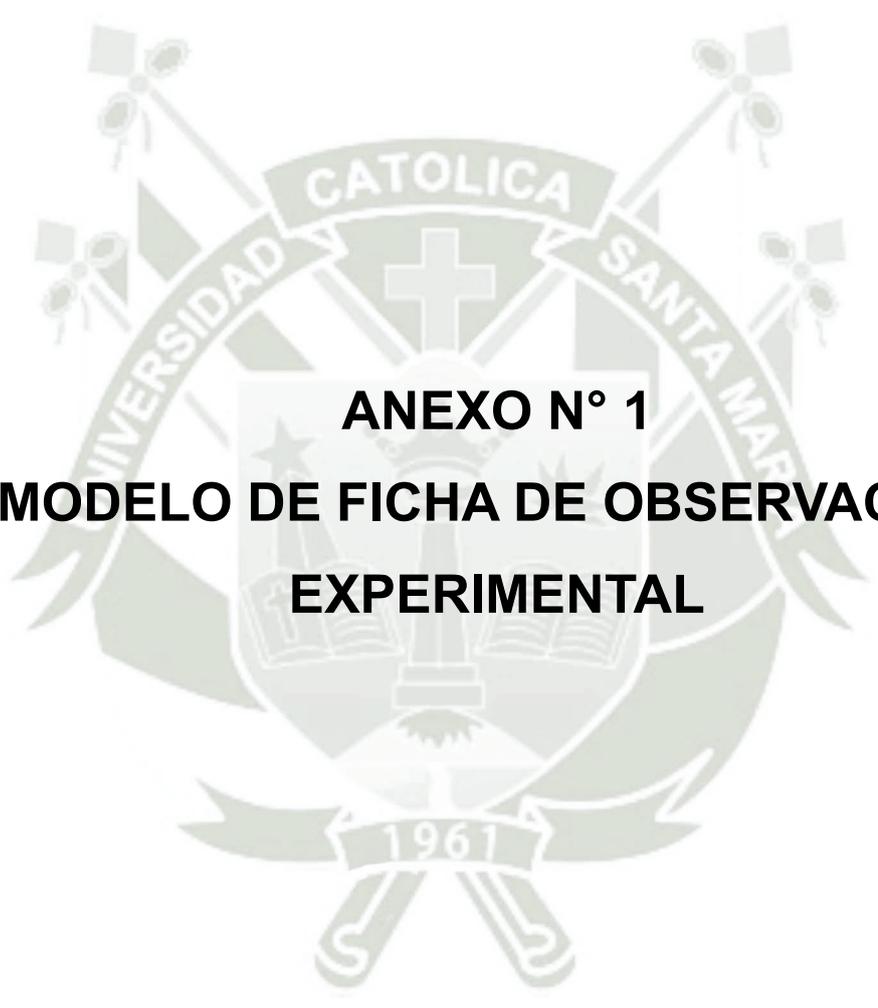
9. Duke JA, Aulik D, Plowman T. Nutritional value of coca. Chapare Bolivia y publicada en el Botanical Museum Leaflets, Harvard University. ; 30(24): p. 113-119.
10. Cabieses F. Apuntes de medicina tradicional Lima, Perú: A&B S.A; 1993.
11. Cabieses F. Aspectos etnológicos de la coca y la cocaína. Cocaína 1980-Actas del Seminario Interamericano sobre Aspectos Médicos y Sociológicos de la Coca y la Cocaína. Primera ed. Lima, Perú: Editorial F.R.; 1980.
12. Hamer JE, Villegas LO. The effect of coca leaf chewing on de buccal mucosa of Aymara and Quechua Indians in Bolivia. Oral Surg, August. 1969 August; 28(2): p. 287-295.
13. Bascones Martínez A. Antisépticos en el tratamiento de la enfermedad periodontal. Av Periodon Implantol. 2002; 14(3): p. 101-114.
14. Goicochea A. Estudio de la cavidad bucal en los sujetos habituados a la masticación de hojas de coca en la hacienda Collambay-Trujillo. Tesis de Bachiller. Lima, Perú: UNMSM; 1954.
15. Ungaro M. Patología oral en masticadores de hojas de coca. Tesis Doctoral. Lima, Perú: UPCH; 1972.
16. Cam Albuja O, Villanueva Vílchez P. Acción Inhibitoria in vitro del extracto acuoso y extracto metanólico de la hoja de *Erythroxylum novogranatense* (Morris) var. *truxillense* (Rusby) frente a bacterias Gram (-) y Gram (+). Tesis de bachiller para Químico farmacéutico. Lima, Perú: UNMSM; 1996.
17. Universidad de Harvard. Valor nutricional de la hoja de coca. Universidad de Harvard. 1975.
18. Domínguez A. Fitoquímica y Caracterización del alcaloide USA: WHO; 1985.
19. Whitson A. Antifungal Plants of the Peruvian Amazon. A survey of Medicinal uses and biological activity of plants. Tesis Cornell University. U.S.A.; 2002.

20. Málaga E. Efecto del Clorhidrato de Taspina sobre la curación de la ulcera gástrica inducida en ratas. Tesis de Bachillerato en Biología. Lima: Pontifica Universidad Católica del Perú, Servicio de Publicaciones e intercambio Científico; 1991.
21. Persinos G. Amazon Natural Drug Co. Us. Patent 3694. Chemical Abstract. 1973;; p. 7827-78.
22. Hamma M, Moniot J. A Biogenetically Patterned Conversion of Magnoflorine in to Taspina. Journal Chemical Society. 1971; 2(6): p. 1065 - 1066.
23. Mille M. Estudio sobre el Mecanismo de acción del principio activo Taspina de Sangre de grado. Tesis Bachiller en Biología. Lima, Perú: Pontifica Universidad Católica del Perú, Servicio de Publicaciones e intercambio Científico; 1985.
24. Meza N. Sangre de grado, el reto de su preservación sustentable en el Perú. Primera ed. Lima, Perú: Elsa N. Meza; 1999.
25. Arbildo Tello L, Pérez Macedo JE. Rendimiento de taspina aislada de 2 muestras de Croton lechlerii (Sangre de grado) de las cuencas del Bajo Nanay y Alto Napo respectivamente. Tesis de titulo profesional. Iquitos;; 2014.
26. Vaisber A, J. M. Taspine in the Cicatrizant Principle in Sangre de Grado Extracte from (Croton lechlerii). Córdova. Plantas M.C. 1989; 5(2).
27. Betancourth M. Microorganismos inusuales en surcos y bolsas periodontales. Colomb. Cali.mar Med. 2006; 37(1).
28. Pérez Torres H. Farmacología Y Terapéutica Odontológica. Antisépticos Y Desinfectantes Odontológicos – Clorhexidina: Celsus; 2005.
29. BUCOXIDINA. BUCOXIDINA (clorhexidina 0.12%) – colutorio, gianfarma s.a..
30. VADEMECUN FARMACOLOGICO PERUANO. Clorhexidina: Médicas Internacionales; 2004.
31. De La C. Torres López M, Díaz M. La clorhexidina, bases estructurales y aplicaciones en; la estomatología. Revista estomatológica de México. 2008; 2(3).

32. Holt S, Kesavalu L, Walker S, Genco C. Virulence factors of *Porphyromona gingivalis*. *Periodontol.* 2000; 20(1): p. 168-238.
33. Genco R, JJ. Z. The origin of periodontal infection. *Adv Dent Res.* 1998; 2(2): p. 245-259.
34. Beck J, Offenbacher S. Periodontitis: A risk factor coronary heart disease?. *Ann of Periodontol.* ; 3: p. 127-141.
35. Dasanayake A. Poor periodontal health of the pregnant woman as a risk factor for low birth weight. *Ann of Periodontol.* 1998; 3(3): p. 51-61.
36. Ishikawa I, Baheni P. Nonsurgical periodontal therapy - where do we stand now? *Periodontol.* 2004; 36(9): p. 9-13.
37. Olsen I, Shhah H, Gharbia S. Taxonomy and biochemical characteristics of *Actinobacillus actinomycescomitans* and *Porphyromona gingivalis*. *Periodontol.* 200; 20: p. 14-52.
38. Shah H, JM. H. Taxonomic studies on *Bacteroides melaninogenicus*, *Bacteroides oralis*, *Bacteroides ruminicola* and related organisms. *Res Clin Forums.* ; 1: p. 51-53.
39. Coykendall A, Kacmarek F, J. S. Genetic heterogeneity in *Bacteroides*. *Int J Sys Bacteriol.* 1980; 30: p. 559–564.
40. Okuda K, Takazoe I. The Role of *Bacteroides Gingivalis* in Periodontal Disease. *Int J Sys Bacteriol.* 1988; 30(2): p. 559–564.
41. Lamont R, Jenkinson H. Life below the gum line: Pathogenic Mechanism of *Porphyromona gingivalis*. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1999; 62(4).
42. Gonzales Carrillo GC. Eficacia antibacteriana in vitro del extracto etanólico de propóleo frente a la *Porphyromonas Gingivalis* Atcc 33277. Tesis de título profesional. Lima, Perú: Universidad Nacional Federico Villareal; 2018.
43. Sánchez Huamàn EG. Evaluación "in vitro" del efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de *erythroxlaceae erythroylum coca novogranatense* frente al

- Streptococcus mutans atcc 25175 en comparación con el gluconato de clorhexidina al 2% Chimbote 2018. Chimbote: Universidad Católica los Ángeles de Chimbote; 2018.
44. Morillo Castillo JA, Balseca Ibarra MC. Eficacia inhibitoria del aceite esencial de Cymbopogon Citratus sobre cepas de Porphyromona Gingivalis: Estudio in vitro. Revista Odontología de la Universidad Central del Ecuador. 2018; 20(2).
45. Espinosa Martínez AM. Efecto inhibitorio de la sangre de drago (croton lechleri) a diferentes concentraciones frente a streptococcus mutans y porphyromonas gingivalis estudio microbiológico in vitro. Tesis de titulo profesional. Quito, Ecuador: Universidad Internacional del Ecuador, Facultad de Odontología. UIDE; 2018.
46. Quichca Mendoza JC. Grado de eficacia del aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) y clorhexidina al 0,12% en la inhibición del crecimiento de Porphyromonas gingivalis. estudio comparativo in vitro. Lima 2016. Tesis pregrado. Lima, Perú: Universidad Norbert Wiener; 2017.
47. Carhuaricra Soto YA. Efecto Inhibidor del aceite esencial de rosmarinus officinalis (Romero) y clorhexidina al 0.12% sobre Porphyromonas gingivalis. Estudio in vitro. Lima 2015. Carhuaricra Soto, Yudiht Abigail URI. Tesis titulo profesional. Lima, Perú: Universidad Norbert Wiener; 2015.
48. Pedrique de Aulacio M. Determinacion de la sensibilidad de las bacterias a los antibióticos. [Online].; 2012 [cited 2021 diciembre 1. Available from: http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/10_Antibiograma.pdf.
49. Cona E. Condiciones para un buen estudio de susceptibilidad mediante test de difusión en agar. [Online].; 2012 [cited 2021 diciembre 3. Available from: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v19s2/art01.pdf>.





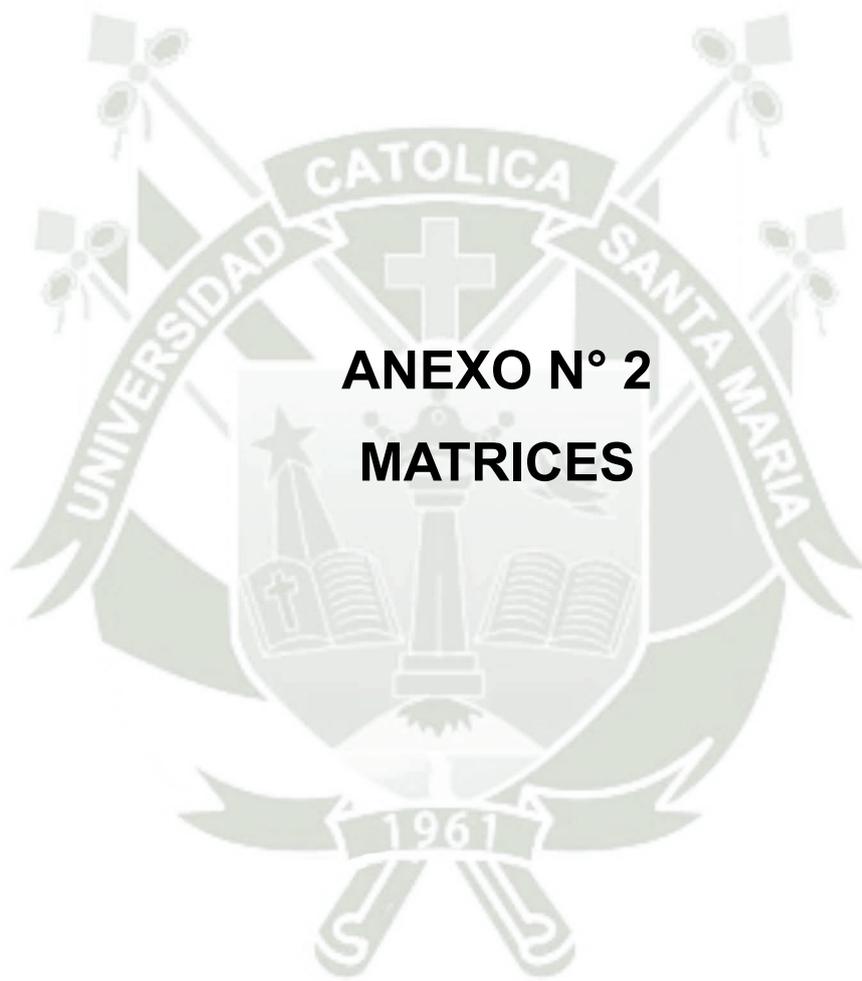
ANEXO N° 1
MODELO DE FICHA DE OBSERVACIÓN
EXPERIMENTAL

FICHA DE OBSERVACIÓN EXPERIMENTAL

Ficha N°

Enunciado: Eficacia del extracto hidroalcohólico de coca, de la sangre de grado y del gluconato de clorhexidina en el diámetro del halo inhibitorio de las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis* en el Laboratorio de Microbiología de la UCSM. 2017”

HALO INHIBITORIO		COCA			SANGRE DE GRADO AL 100%	GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.12%	BICARBONATO DE SODIO
		25%	50%	100%			
(1) Diámetro							
(2) Característica establecida	Resistente						
	Poco sensible						
	Sensible						
	Muy sensible						
(3) Valor establecido	(-)						
	(+)						
	(++)						
	(+++)						



ANEXO N° 2
MATRICES

MATRIZ N° 1

Eficacia del extracto hidroalcohólico de coca al 25%, 50% y 100% en el diámetro del halo inhibitorio de las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*.

UE	25%			50%			100%		
	Diámetro	Característica	Valor establecido	Diámetro	Característica	Valor establecido	Diámetro	Característica	Valor establecido
1.	6	Resistente	-	9	Poco sensible	+	17	Sensible	++
2.	6	Resistente	-	11	Poco sensible	+	15	Sensible	++
3.	6	Resistente	-	10	Poco sensible	+	18	Sensible	++
4.	6	Resistente	-	11	Poco sensible	+	16	Sensible	++
5.	6	Resistente	-	10	Poco sensible	+	17	Sensible	++

MATRIZ N° 2

Eficacia de la sangre de grado en el diámetro del halo inhibitorio de las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*.

UA	DIÁMETRO (mm)	CARACTERÍSTICA ESTABLECIDA	VALOR ESTABLECIDO
1.	6	Resistente	-
2.	6	Resistente	-
3.	6	Resistente	-
4.	6	Resistente	-
5.	6	Resistente	-

MATRIZ N° 3

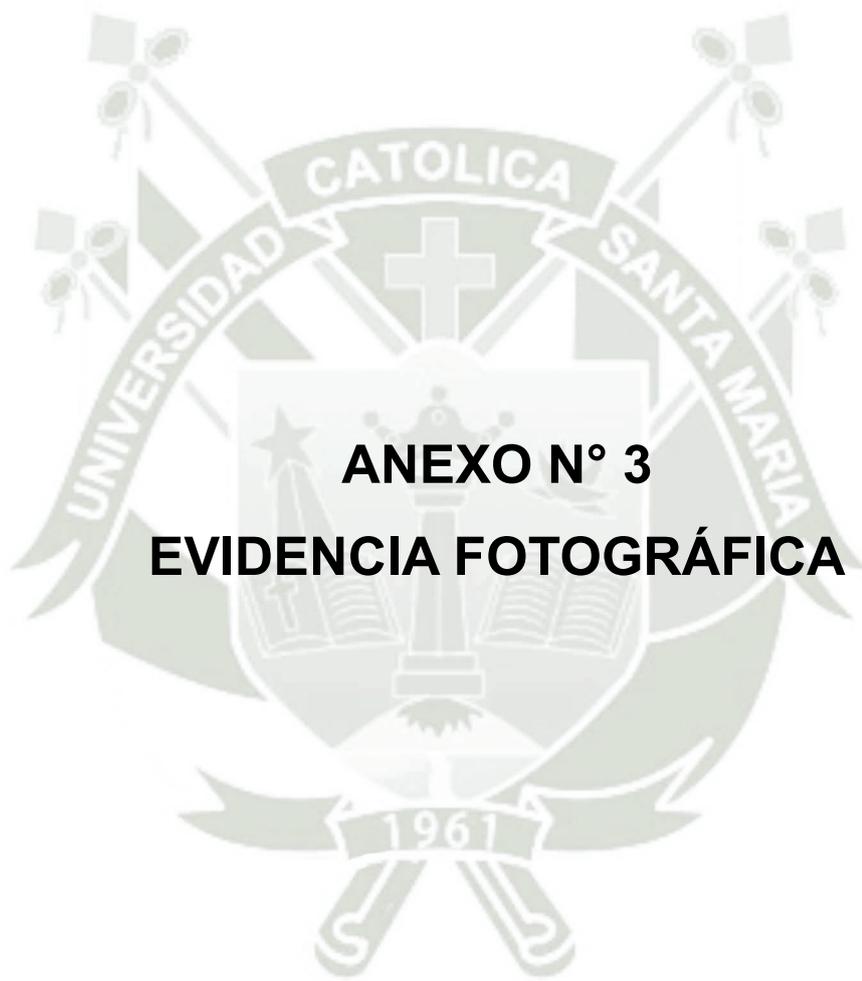
Eficacia del gluconato de clorhexidina al 012% en el diámetro del halo inhibitorio de las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*.

UA	DIÁMETRO (mm)	CARACTERÍSTICA ESTABLECIDA	VALOR ESTABLECIDO
1.	34	Muy sensible	+++
2.	29	Muy sensible	+++
3.	31	Muy sensible	+++
4.	30	Muy sensible	+++
5.	32	Muy sensible	+++

MATRIZ N° 4

Eficacia del bicarbonato de sodio en el diámetro del halo inhibitorio de las cepas certificadas de *Porphyromona gingivalis*.

UA	DIÁMETRO (mm)	CARACTERÍSTICA ESTABLECIDA	VALOR ESTABLECIDO
1.	6	Resistente	-
2.	6	Resistente	-
3.	6	Resistente	-
4.	6	Resistente	-
5.	6	Resistente	-



ANEXO N° 3
EVIDENCIA FOTOGRÁFICA

EXTRACTO DE HOJA DE COCA ETAPA 1



1



2



3 Pesado de las hojas de coca



4 Pesado de las hojas de coca



5 Pesado de las hojas de coca



6 Pulverizado de las hojas de coca con
nitrógeno líquido



7 Pulverizado de las hojas de coca con
nitrógeno líquido



8 Pulverizado de las hojas de coca con
nitrógeno líquido



9



10



11



12



13



14



15



16



17



18



19



20



21 Nitrógeno Líquido



22



23



24



25



26



27



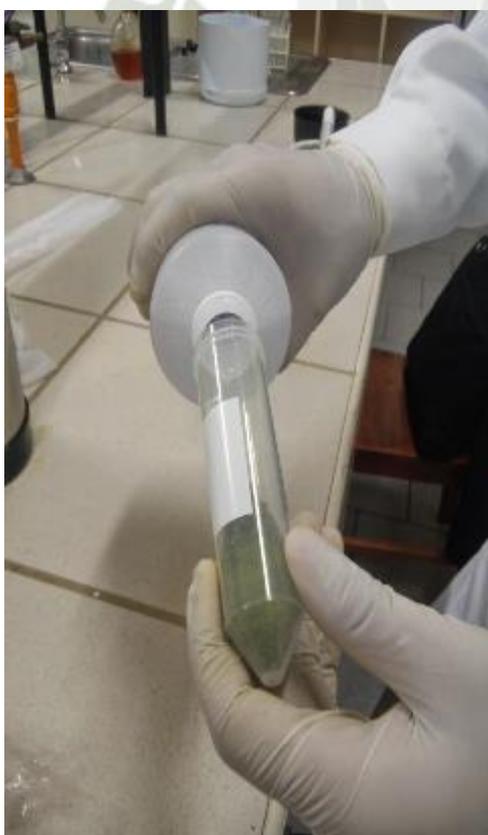
28



29



30



31



32



33



34



35



36



37



38



39



40

Preparación de Material



41



42



43



44



45



46 Preparado del extracto de hoja de coca



47



48 Cepa de *Porphyromonas gingivalis* 33277



49 Sobre de anaerobiosis



50 Sobre de anaerobiosis con bolsa de
resellable para anaerobiosis

ETAPA 2



1 filtrado del extracto de hojas de coca



2



3



4



5



6



7



8



9



10



ETAPA 3



1



2



3



4



5



6



7



8



9



10



11



12



13



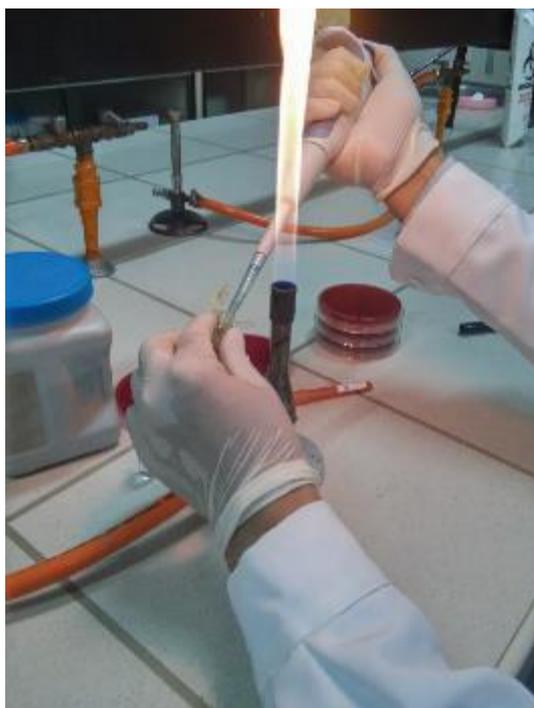
14



15



16



17



18



19



20



21



22



23



24



25



26



27



28



29



30



31



32



33



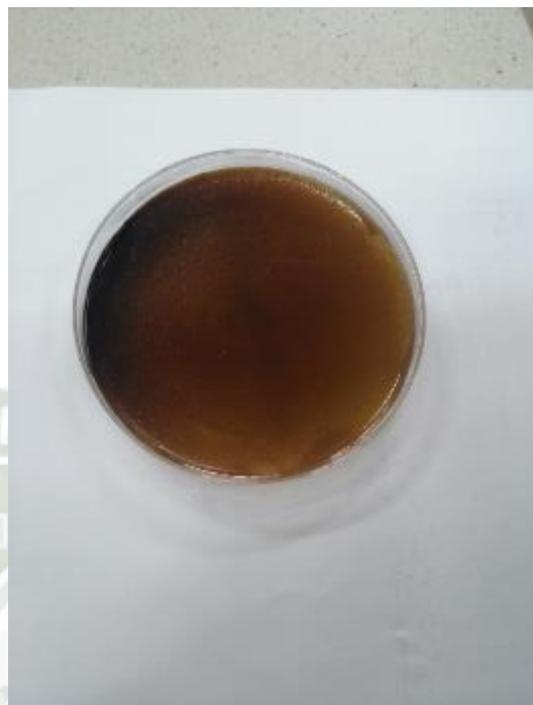
34



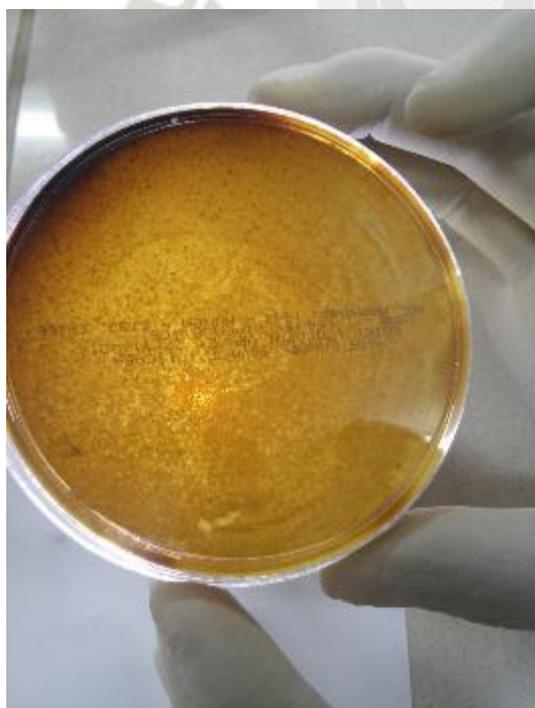
ETAPA 4



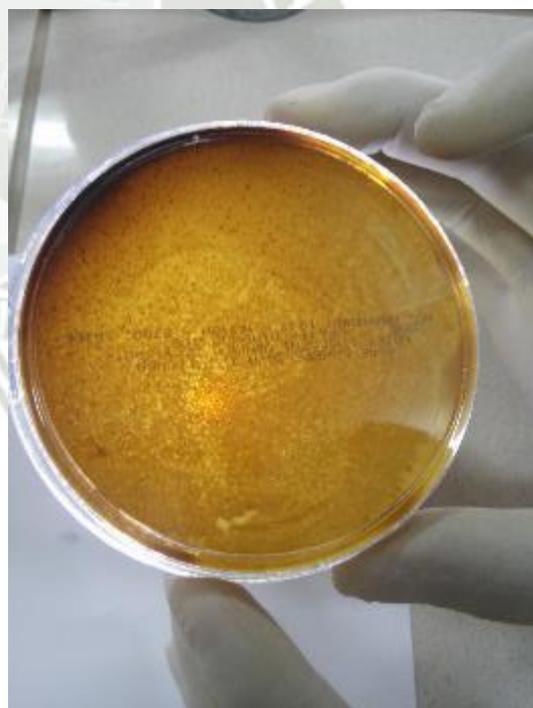
1



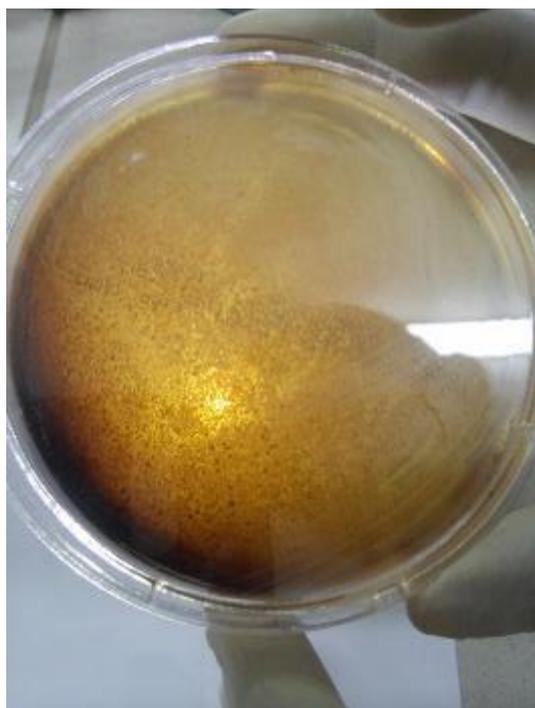
2



3 Control del crecimiento bacteriano



4 Control del crecimiento bacteriano



5



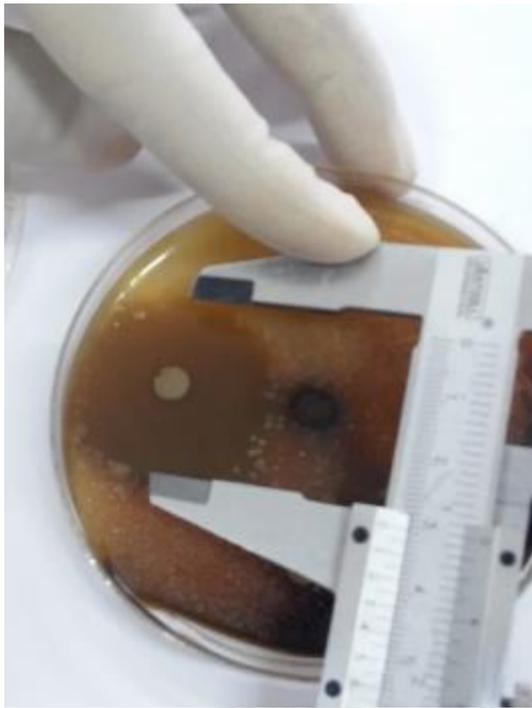
6



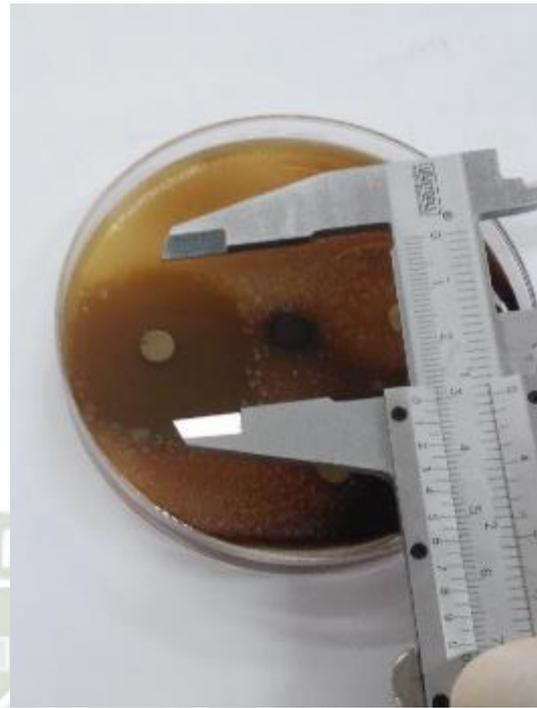
7 Placa con extracto de hoja de coca y
clorhexidina



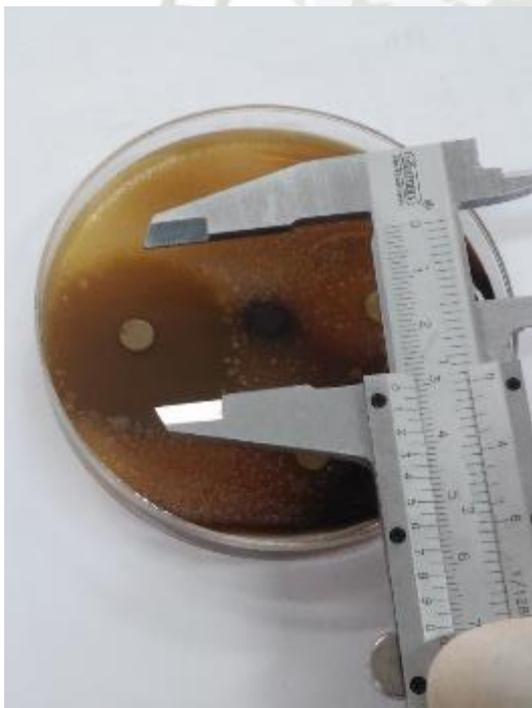
8 Placa con extracto de hoja de coca y
clorhexidina



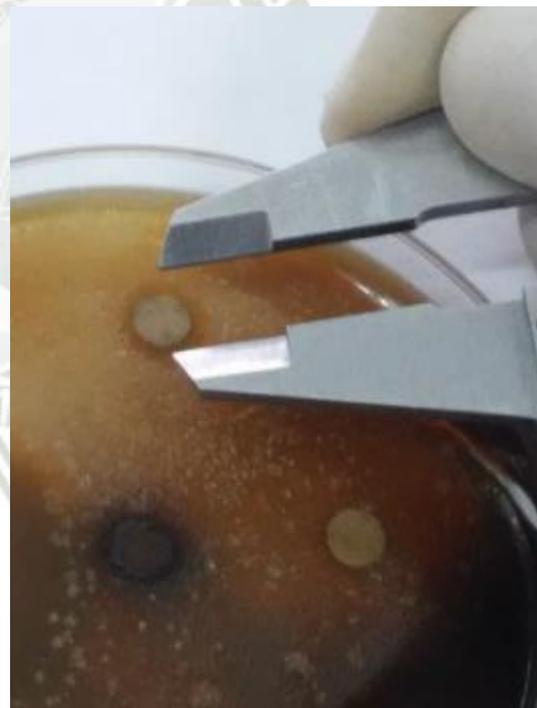
9 Medición de los halos de inhibición de
clorhexidina



10 Medición de los halos de inhibición de
clorhexidina



11



12



13 Medición de los halos de inhibición del extracto de coca a las diferentes concentraciones.



14



15



16



17



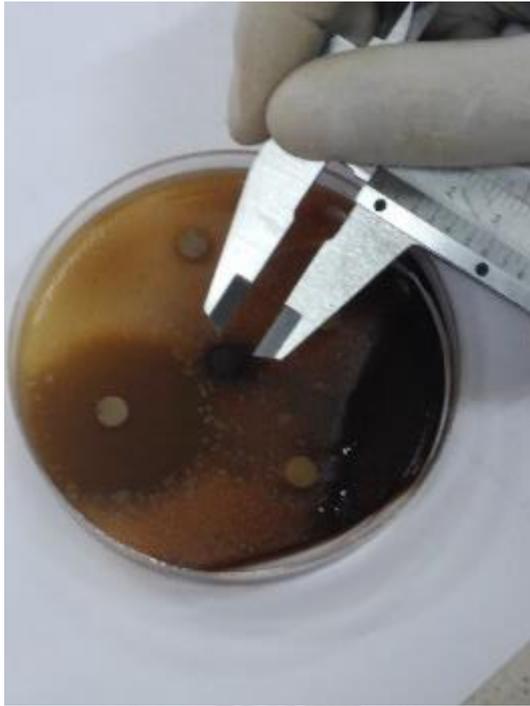
18



19 Medición de los halos de inhibición de
sangre de grado



20 Medición de los halos de inhibición de
sangre de grado



21



22



23 Imagen general de los halos de inhibición:
clorhexidina, extracto de hoja de coca a
diferentes concentraciones (25%, 50% y
100%) y sangre de grado al 100%



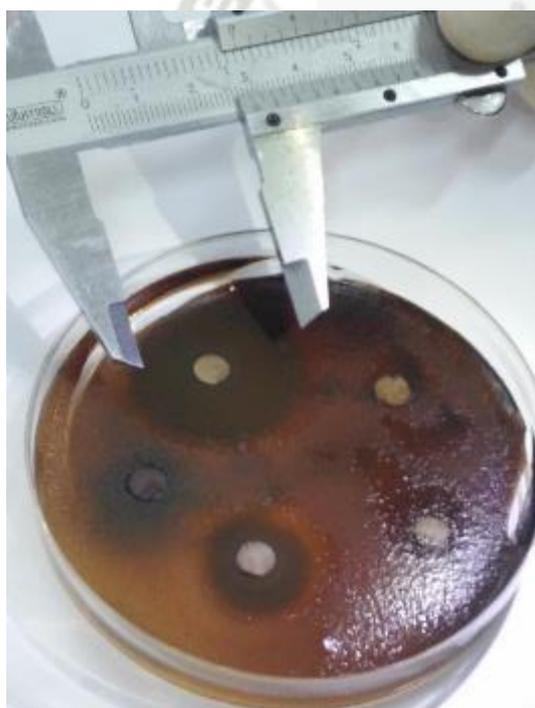
24 Imagen general de los halos de inhibición:
clorhexidina, extracto de hoja de coca a
diferentes concentraciones (25%, 50% y
100%) y sangre de grado al 100%



25



26



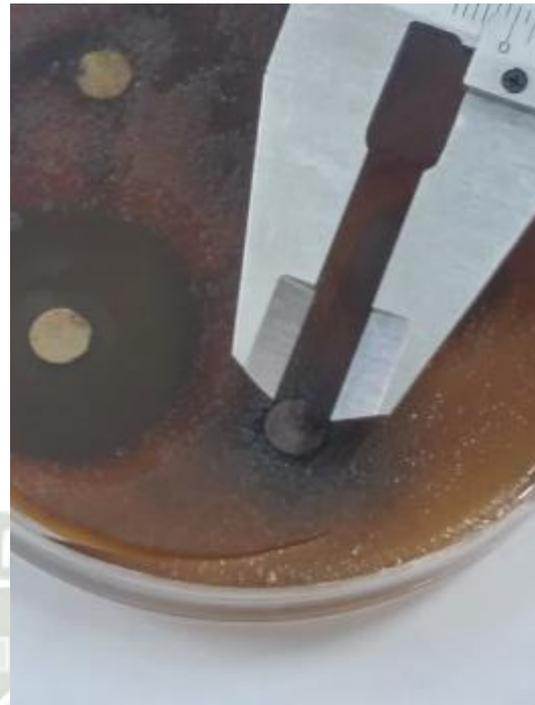
27 clorhexidina



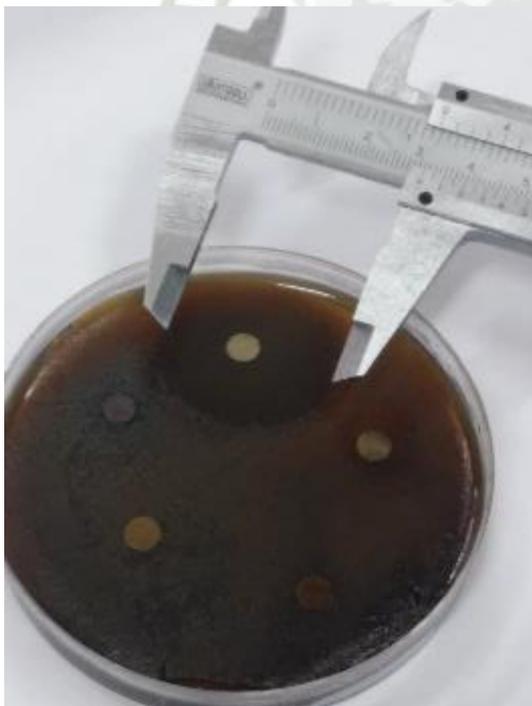
28



29 Medición de los halos de inhibición del
extracto de hoja de coca



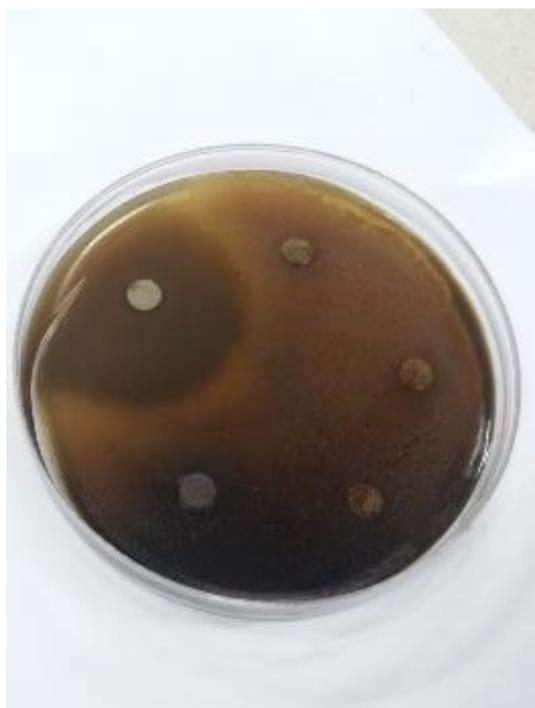
30 Medición de los halos de inhibición de
sangre de grado



31 clorhexidina



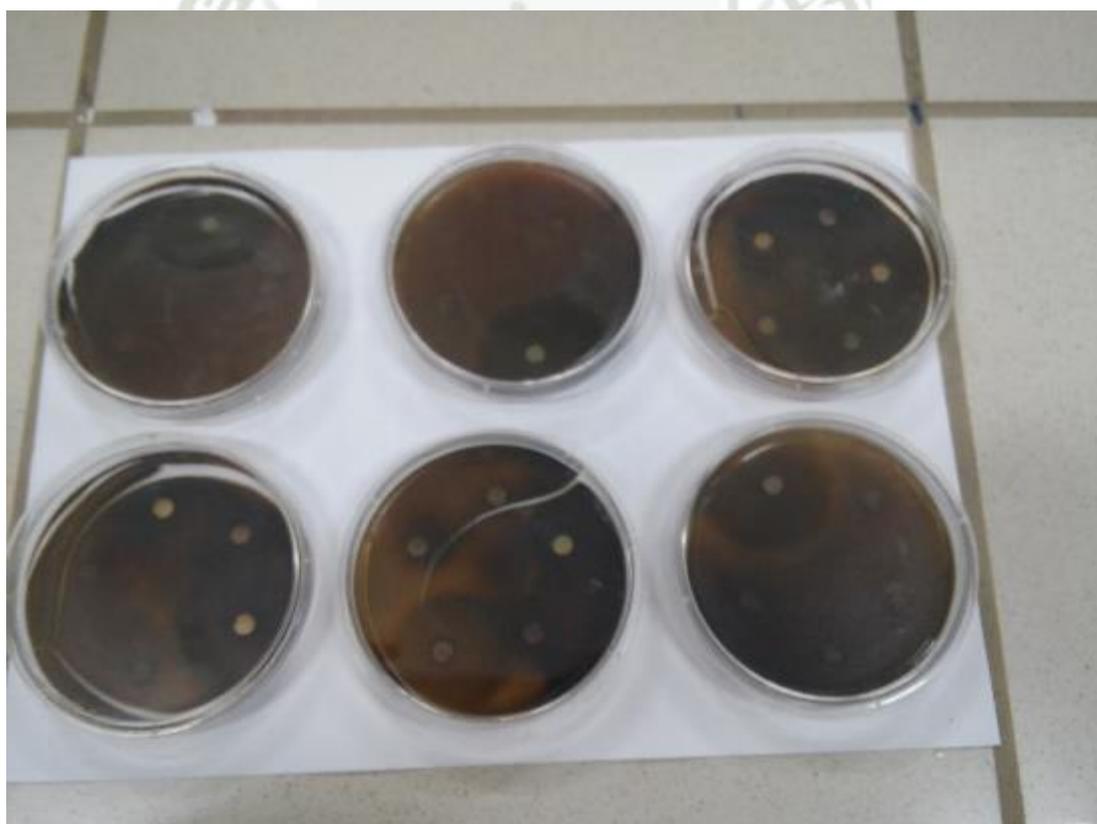
32



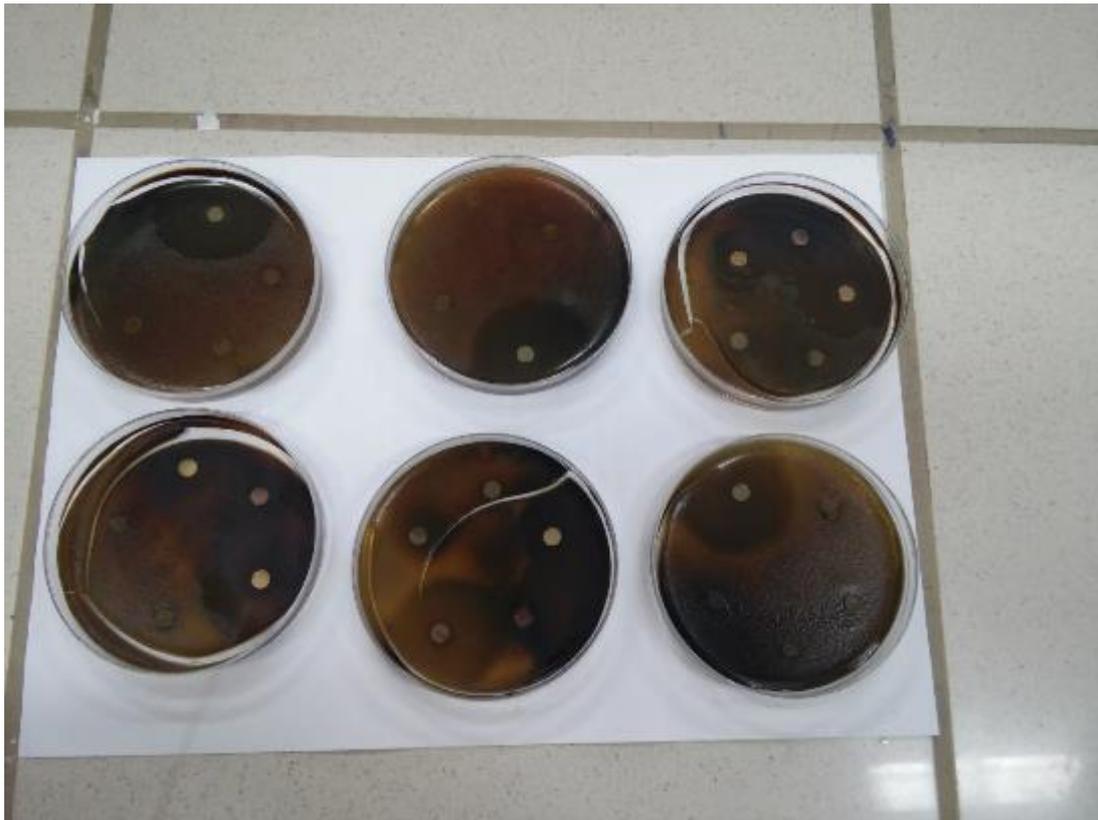
33



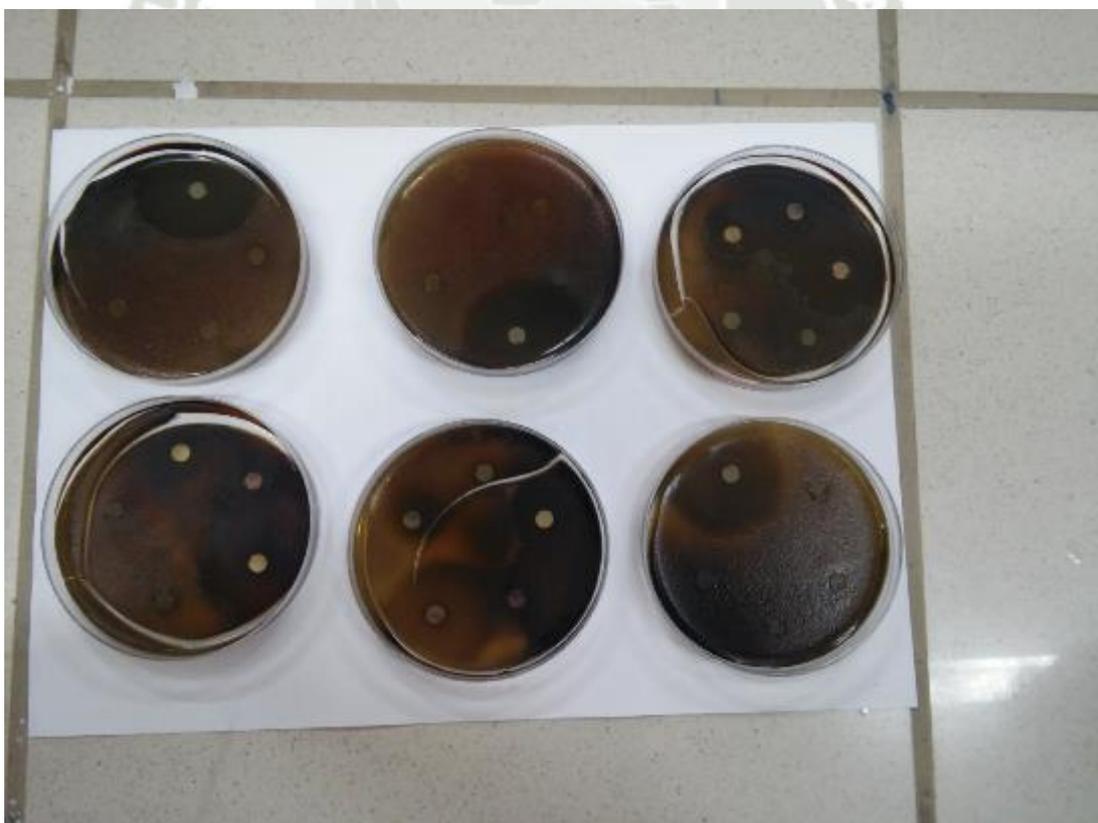
34



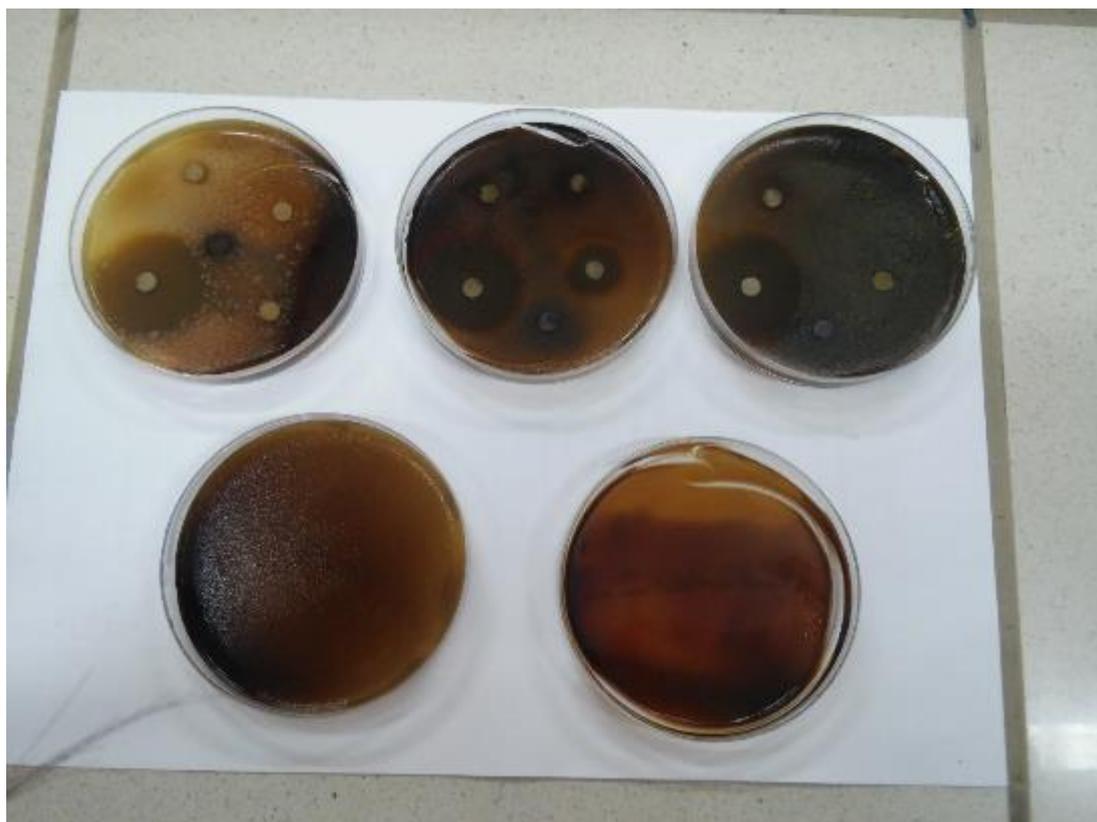
35 disposición general de los cultivos con los discos de inhibición



36



37



38



39