

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO
HIDROETANÓLICO DE HOJAS DE *Copaifera officinalis*
(COPAIBA) Y *Piper aduncum* (MATICO) FRENTE A CEPAS
DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175, DISTRITO DE
TRUJILLO, PROVINCIA DE TRUJILLO,
DEPARTAMENTO DE LA LIBERTAD, 2019**

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

AUTORA

GRAUS RIOS, REIMIRIA YUDITH

ORCID: 0000-0003-0584-0765

ASESORA

HONORES SOLANO, TAMMY MARGARITA

ORCID: 0000-0003-0723-3491

TRUJILLO – PERÚ

2022

1. Título de la tesis

**EFEECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO
HIDROETANÓLICO DE HOJAS DE *Copaifera officinalis*
(COPAIBA) Y *Piper aduncum* (MATICO) FRENTE A CEPAS DE
Streptococcus mutans ATCC 25175, DISTRITO DE TRUJILLO,
PROVINCIA DE TRUJILLO, DEPARTAMENTO DE LA
LIBERTAD, 2019**

2. Equipo de trabajo

AUTORA

Graus Ríos, Reimiria Yudith

ORCID: 0000-0003-0584-0765

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Estudiante de Pregrado,
Trujillo, Perú

ASESORA

Honores Solano, Tammy Margarita.

ORCID: 0000-0003-0723-3491

Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de
la Salud, Escuela Profesional de Odontología, Trujillo, Perú

JURADO

De La Cruz Bravo, Juver Jesús.

ORCID: 0000-0002-9237-918X

Loyola Echeverría, Marco Antonio.

ORCID: 0000-0002-5873-132X

Angeles García, Karen Milena.

ORCID: 0000-0002-2441-6882

3. Hoja de firma del jurado y asesor

Mgtr. De La Cruz Bravo, Juver Jesús.

PRESIDENTE

Mgtr. Loyola Echeverría, Marco Antonio.

MIEMBRO

Mgtr. Angeles García, Karen Milena.

MIEMBRO

Mgtr. Honores Solano, Tammy Margarita.

ASESORA

4. Agradecimiento y dedicatoria

Agradecimiento

A Dios, por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y brindarme una vida llena de aprendizajes experiencias y sobre todo felicidad.

A mis docentes, los cuales son personas de gran sabiduría, quienes han dedicado su tiempo y esfuerzo para ayudarme a conseguir una parte de mis metas.

Dedicatoria

A mis padres, Fermina y Ana, a ellas por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años, gracias a ustedes hemos logrado llegar hasta aquí y por haberme forjado como la persona que soy actualmente, ya que todos los logros que estoy cumpliendo son gracias a ustedes, por motivarme constantemente para alcanzar mis metas.

A mi hermana Fany Graus Ríos por su apoyo incondicional en todo este proceso, con sus consejos y palabras de aliento hicieron de mí una mejor persona.

La autora.

5. Resumen y abstract

Resumen

Objetivo: Determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de hojas de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019. **Metodología:** El estudio fue de tipo cuantitativo, experimental, prospectivo, transversal y analítico, de nivel explicativo y de diseño experimental de grupos en paralelo. La muestra estuvo conformada por 10 repeticiones para cada grupo experimental como son, copaiba y matico al 20% y 40%, copaiba + matico al 20% y 40%, grupo de control positivo Clorhexidina 0,12% y grupo de control negativo Etanol 70°, todos sobre cepas de *Streptococcus mutans*. Se utilizó la técnica de observación experimental y como instrumento una ficha de recolección de datos. **Resultados:** El halo de inhibición del extracto para copaiba al 20% fue 14,4mm, copaiba al 40% fue 14,4mm; para matico al 20% fue 13,52mm, matico al 40% fue 17,02mm; para el extracto mixto de copaiba + matico al 20% fue 14,4mm, copaiba + matico al 40% fue 14,1mm. Al comparar, el extracto de copaiba al 40% y la Clorhexidina al 0,12% (C+) presentan mayor efectividad en comparación con los demás extractos (p=0,000); el control negativo Etanol 70° (C-) no presentó algún efecto sobre cepas de *Streptococcus mutans*. **Conclusión:** Los extractos hidroetanólicos de las hojas de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) tienen efecto antibacteriano frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Palabras clave: *Copaifera officinalis*, *Piper aduncum*, *Streptococcus mutans*.

Abstract

Objective: Determine the antibacterial effect of the hydroethanolic extract of *Copaifera officinalis* (copaiba) and *Piper aduncum* (matico) leaves against strains of *Streptococcus mutans* ATCC 25175, District of Trujillo, Province of Trujillo, Department of La Libertad, 2019. **Methodology:** The study was of a quantitative, experimental, prospective, cross-sectional and analytical type, with an explanatory level and an experimental design of parallel groups. The sample consisted of 10 repetitions for each experimental group such as copaiba and matico at 20% and 40%, copaiba + matico at 20% and 40%, positive control group Chlorhexidine 0.12% and negative control group Ethanol 70 °, all on strains of *Streptococcus mutans*. The experimental observation technique was used and a data collection form was used as an instrument. **Results:** The inhibition zone of the extract for copaiba at 20% was 14.4mm, copaiba at 40% was 14.4mm; for matico at 20% it was 13.52mm, matico at 40% it was 17.02mm; for the mixed extract of copaiba + matico at 20% it was 14.4mm, copaiba + matico at 40% was 14.1mm. When comparing, copaiba extract at 40% and Chlorhexidine at 0.12% (C+) have greater effectiveness compared to the other extracts ($p=0.000$); the negative control Ethanol 70° (C-) did not show any effect on strains of *Streptococcus mutans*. **Conclusion:** Hydroethanolic extracts from the leaves of *Copaifera officinalis* (copaiba) and *Piper aduncum* (matico) have an antibacterial effect against strains of *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Keywords: *Copaifera officinalis*, *Piper aduncum*, *Streptococcus mutans*,.

6. Contenido

1. Título de la tesis	ii
2. Equipo de trabajo	iii
3. Hoja de firma del jurado y asesor	iv
4. Agradecimiento y dedicatoria.....	v
5. Resumen y abstract.....	vii
6. Contenido.....	ix
7. Índice de tablas y gráficos	x
I. Introducción	1
II. Revisión de la literatura	5
III. Hipótesis	23
IV. Metodología	24
4.1 Diseño de la investigación	24
4.2 Población y muestra.....	26
4.3 Definición y operacionalización de variables e indicadores.....	28
4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	29
4.5 Plan de análisis	35
4.6 Matriz de consistencia	36
4.7 Principios éticos.....	37
V. Resultados.....	38
5.1. Resultados.....	38
5.2. Análisis de resultados	45
VI. Conclusiones.....	49
Aspectos complementarios.....	50
Referencias bibliográficas:.....	51
Anexos.....	58

7. Índice de tablas y gráficos

Índice de tablas

Tabla 1.- Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de hojas de <i>Copaifera officinalis</i> (copaiba) y <i>Piper aduncum</i> (matico) frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019	38
Tabla 2.- Efecto antibacteriano del extracto de <i>Copaifera officinalis</i> (copaiba) al 20% y 40% frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019	40
Tabla 3.- Efecto antibacteriano del extracto de <i>Piper aduncum</i> (matico) al 20% y 40% frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019	41
Tabla 4.- Efecto antibacteriano del extracto mixto de <i>Copaifera officinalis</i> (copaiba) y <i>Piper aduncum</i> (matico) frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019	42
Tabla 5.- Comparación del efecto antibacteriano del extracto <i>Copaifera officinalis</i> (copaiba) y <i>Piper aduncum</i> (matico) frente con la Clorhexidina al 0,12% y Etanol 70° frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019	43

Índice de gráficos

Gráfico 1.- Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de hojas de <i>Copaifera officinalis</i> (copaiba) y <i>Piper aduncum</i> (matico) frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019	38
Gráfico 2.- Efecto antibacteriano del extracto de <i>Copaifera officinalis</i> (copaiba) al 20% y 40% frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019	40
Gráfico 3.- Efecto antibacteriano del extracto de <i>Piper aduncum</i> (matico) al 20% y 40% frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019	41
Gráfico 4.- Efecto antibacteriano del extracto mixto de <i>Copaifera officinalis</i> (copaiba) y <i>Piper aduncum</i> (matico) frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019	42
Gráfico 5.- Comparación el efecto antibacteriano del extracto <i>Copaifera officinalis</i> (copaiba) y <i>Piper aduncum</i> (matico) frente con la Clorhexidina al 0,12% y Etanol 70° frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019	43

I. Introducción

A lo largo de las últimas décadas se ha observado un incremento en la frecuencia de infecciones producidas por bacterias de tipo Gram positivas, dentro de las cuales está el *Streptococcus mutans*, que asume un papel muy importante en las infecciones nosocomiales de gravedad.¹

La caries dental es una enfermedad multifactorial que provoca la destrucción paulatina de los tejidos del diente. Es originada por los ácidos que generan las bacterias y los microorganismos, y que viven en nuestra boca tras la ingesta de alimentos. Dentro de las bacterias se encuentra el *Streptococcus mutans*, el cual es la principal bacteria en la aparición de la caries dental.¹

La cavidad oral es un entorno amplio donde interaccionan diversos tejidos propios de la boca, donde coexisten diversas variedades de especies microbianas, encargados de colonizar las mucosas y los dientes logrando habitar ecosistemas primarios y secundarios creando una biopelícula dental (biofilm dental); siendo el principal factor responsable de producir diversas enfermedades bucales como la caries dental, enfermedades periodontales e infecciones pulpares.²

Últimamente, en el campo de la odontología se ha evidenciado que las plantas naturales pueden ser beneficiosas, debido a los principios activos y propiedades antibacterianas que poseen y que combaten bacterias como el *Streptococcus mutans*.³

Según el Ministerio de Salud (MINSA), en nuestro país la prevalencia de caries dental se encuentra en un 95%, es por ello, que diferentes autores establecen

mejoras en las alternativas para el uso de plantas naturales y sus principios activos de tal manera que disminuya la caries dental.⁴

Desde la antigüedad, la medicina natural o tradicional es utilizada de forma empírica para aliviar diferentes enfermedades o infecciones. Uno de los países con mayor diversidad de flora es el Perú, las cuales poseen diversas características y propiedades, siendo el motivo e interés de diversas investigaciones científicas para explorar sus principios activos que reflejan su actividad terapéutica.⁴

Dentro de la gran diversidad de plantas se encuentra la especie de *Piper aduncum* (matico) y la *Copaifera officinalis* (copaiba), las cuales vienen siendo muy utilizadas para aliviar y curar diversos tipos de enfermedades, tanto en las hojas como en el tallo se encuentran compuestos como taninos, flavonoides, glucósidos, alcaloides que son los que le dan su actividad antibacteriana y antifúngica.^{4,5}

En estudios a nivel internacional, Pieri A, et al.⁶ (Brasil, 2016) evidenciaron que la *Copaifera officinalis* (copaiba) mostró inhibición del crecimiento bacteriano en todas las concentraciones analizadas.

A nivel nacional, Moromi H, et al.⁷ (Lima, 2018) determinaron el efecto antibacteriano de la copaiba en sus cuatro concentraciones, hallando mayor halo de inhibición en la concentración al 100%, donde se evidenció un halo de 30,00mm sobre *Streptococcus mutans* y un halo de $8,3 \pm 0,50$ mm sobre *E. faecalis*.

Ante lo sustentado, el enunciado del problema es ¿Cuál es el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de hojas de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019?. El objetivo

general fue: Determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de hojas de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019. Y los objetivos específicos fueron: Determinar el efecto antibacteriano del extracto de *Copaifera officinalis* (copaiba) al 20% y 40%, determinar el efecto antibacteriano del extracto de *Piper aduncum* (matico) al 20% y 40%, determinar el efecto antibacteriano del extracto mixto de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico), comparar el efecto antibacteriano del extracto *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) con la Clorhexidina al 0,12% y Etanol 70° frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

La investigación se justifica por relevancia social y aporte teórico, puesto que beneficia a los pacientes, como tratamiento preventivo frente a *Streptococcus mutans*; y del mismo modo beneficia a los profesionales odontólogos con la actualización teórica estadística de los resultados obtenidos, logrando generalizarlos a principios más amplios y conociendo el comportamiento de la variable de estudio. Debido a la limitada cantidad de investigaciones a nivel nacional sobre las propiedades de la *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) el presente estudio obtuvo nueva información sobre las propiedades medicinales de las plantas; por lo cual sirve como precedente para futuros investigadores. De la misma forma, posee utilidad metodológica, dado que el instrumento adaptado fue de gran ayuda para la recolección y el análisis los datos, asimismo, puede utilizarse o adaptarse para futuras investigaciones.

La investigación se desarrolló en las instalaciones del Laboratorio de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, se estableció un tipo de investigación cuantitativo, prospectivo, transversal y analítico, de nivel explicativo y de diseño experimental de grupos en paralelo, se evaluaron un total de 80 muestras de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 divididas en 10 repeticiones para cada uno de los seis grupos experimentales y 2 grupos de control, se aplicó el extracto de *Copaifera officinalis* (copaiba) en concentraciones al 20% y 40%, *Piper aduncum* (matico) al 20% y 40% y el extracto mixto; los resultados demostrando mayor efectividad en la concentración de Copaiba al 40%, seguido del control positivo Clorhexidina, luego la concentración de Matico al 40%. Concluyendo que, los extractos hidroetanólicos de las hojas de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) tienen efecto antibacteriano frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

La investigación consta de seis apartados, se inició con la introducción, revisión de la literatura, hipótesis, metodología (tipo, nivel y diseño de investigación; población y muestra, operacionalización de variables; técnica e instrumento, plan de análisis, matriz de consistencia y principios éticos), resultados, conclusiones y recomendaciones.

II. Revisión de la literatura

2.1. Antecedentes

Internacionales

Pieri A, et al.⁶ (Brasil, 2016). Efecto bacteriostático del aceite de copaiba (*Copaifera officinalis*) contra *Streptococcus mutans*. **Objetivo:** Evaluar la actividad inhibitoria del aceite de copaiba (*Copaifera officinalis*) contra el microorganismo cariogénico *Streptococcus mutans*. **Metodología:** Se realizó un estudio experimental, in vitro, prospectivo, transversal. La muestra se conformó por 8 placas para *S. mutans*. Se desarrollaron pruebas de sensibilidad activando primero las cepas bacterias a enfrentar. Las concentraciones a probar de 100%, 50%, 25%, y 12,5%. **Resultados:** La copaiba determinó un efecto antibacteriano en sus cuatro concentraciones, siendo los mayores halos de inhibición a la concentración del 100%, la copaiba generó mayores halos promedios para *Streptococcus mutans* de 30,00mm y para *E. faecalis* de 8,3±0,50mm. **Conclusión:** El aceite de copaiba mostró actividad bacteriostática contra *Streptococcus mutans* a bajas concentraciones.

Simoès C, et al.⁸ (Brasil, 2016). Antibacterial Activity of Copaiba Oil Gel on Dental Biofilm. **Objetivo:** Evaluar la actividad antibacteriana in vitro del gel de aceite de copaiba (*Copaifera multijuga*) frente a cepas de *Streptococcus sp* presentes en biofilm dental. **Metodología:** Se realizó un estudio experimental, in vitro, transversal. La muestra se conformó por cepas *Streptococcus mitis*, *Streptococcus constellatus* y *Streptococcus salivarius* aisladas de pacientes.

Los grupos de estudio fueron gel de aceite de copaiba experimental, gel de clorhexidina al 1% (control positivo) y gel base (control negativo). El efecto antibacteriano se evaluó mediante la medición de los halos de inhibición a las 12 y 24 horas. **Resultados:** El gel de aceite de copaiba experimental y el gel de clorhexidina al 1% mostraron actividad antibacteriana contra los microorganismos probados. cuyos valores eran superiores a 20mm a las 12 y 24 horas de exposición a los geles. **Conclusión:** El gel de aceite de copaiba demostró actividad antibacteriana contra todas las cepas de *Streptococcus sp* probadas, lo que sugiere que se puede utilizar para el control de biopelículas dentales.

Froés M, et al.⁹ (Brasil, 2015). Antimicrobial activity of *Piper aduncum* leaf extracts against the dental plaque bacteria *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis*. **Objetivo:** Evaluar el efecto antibacteriano del extracto de matico frente a *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguinis*. **Metodología:** Se realizó un estudio experimental in vitro, prospectivo. La muestra se conformó por cepas de *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguinis*. Se elaboraron extractos de etanol. El efecto antimicrobiano se determinó mediante la concentración mínima inhibitoria (MIC) de los extractos la cual se determinó utilizando el método de microdilución en caldo. **Resultados:** El *Streptococcus mutans* fue más susceptible a los extractos crudos del matico que *Streptococcus sanguinis*, además, la mayor actividad antibacteriana se obtuvo con el extracto de maceración (MAC). Para *Streptococcus mutans* se obtuvo una MIC de 0.08mg/mL y para *Streptococcus*

sanguinis tuvo una MIC de 0,62mg/m. **Conclusión:** El extracto de matico tuvo una actividad antibacteriana preferencial sobre *Streptococcus mutans*.

Nacionales

Mendoza M.¹⁰ (Trujillo, 2019). Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Piper aduncum* (matico) obre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina, estudio invito. **Objetivo:** Evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial del *Piper aduncum* (matico) comparado con oxacilina 1 ug sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. **Metodología:** Se realizó un estudio experimental, in vitro, prospectivo, transversal. La muestra se conformó por colonias de *Staphylococcus aureus* cultivadas en placas Petri. Se obtuvo 12 repeticiones para cada grupo experimental. Se utilizó el medio de cultivo agar Muller-Hinton, para el cultivo de la cepa de *Stapylococcus aureus* ATCC 25923, en la prueba de susceptibilidad, de acuerdo a las recomendaciones del CLSI a través del estándar M02-A12. **Resultados:** El aceite esencial de *Piper aduncum* (matico) mostró halos de inhibición a partir de la dilución de 75% con 13,70mm, al 100% el halo de inhibición fue de 16,50mm; valores considerados como eficaces en relación al patrón CSI (>12mm), sin embargo, no supera el halo de inhibición del medicamento oxacilina con 30,60mm. A las concentraciones de 50% (10,5mm) y 25% (8,4mm) no se observó efecto antibacteriano. La prueba de Tukey demostró que los grupos evaluados eran homogéneos y el grupo con mayor halo de inhibición fue para oxacilina seguido del aceite esencial al 100% de la planta en estudio evidenciándose que a mayor concentración el halo de inhibición aumentaba. **Conclusión:** El aceite esencial del *Piper aduncum* (matico) si

tiene efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* pero no superando el halo de inhibición de la oxacilina ($p < 0,01$).

Tapia V.¹¹ (Trujillo, 2019). Efecto antifúngico, in vitro, entre el extracto hidroalcohólico de hojas y tallo de *Piper aduncum* (matico) sobre *Candida albicans* ATCC 10231, Trujillo – 2018. **Objetivo:** Comparar, in vitro, el efecto antifúngico entre el extracto hidroalcohólico de hoja y tallo de *Piper aduncum* (matico) sobre *Candida albicans*. **Metodología:** Se realizó un estudio experimental in vitro, transversal. La muestra se conformó por 32 placas con cepas de *Candida albicans* ATCC 10231. Se prepararon dos concentraciones hidroalcohólicas de *Piper aduncum* (matico) al 50% y 75%. Posteriormente se colocaron discos empapados con los extractos de las diferentes concentraciones. La información se registró en una ficha de recolección de datos. **Resultados:** El extracto de la hoja al 50% presenta un halo de inhibición de 14,94mm y el extracto de la hoja al 75% presenta un halo de inhibición de 19,06mm., mientras que en extracto de tallo al 50% presenta un halo de inhibición de 0,00mm y en el extracto del tallo al 75% presenta un halo de inhibición de 10,63mm. Al comparar los efectos la prueba de Duncan demuestra que todos los tratamientos se diferencian entre sí. **Conclusión:** El extracto hidroalcohólico en hoja, presenta mayor efecto antifúngico en comparación al tallo, en las concentraciones al 50% y 75%, así como que el extracto hidroalcohólico al 75% en hoja como en tallo, presenta mayor efectividad antifúngica, en comparación a la concentración al 50%.

Godoy J.¹² (Chimbote, 2018). Actividad antimicrobiana In vitro del aceite esencial de *Copaifera officinalis* (copaiba) sobre *Streptococcus mutans*,

Chimbote, 2017. **Objetivo:** Conocer el efecto antimicrobiano del acetite de *Copaifera officinalis* (copaiba) en tres diferentes concentraciones de 15%, 10%, 5% sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans*. **Metodología:** Se realizó un estudio cuantitativo, de nivel explicativo y de diseño experimental longitudinal. La muestra se conformó por 12 placas Petri que contienen cepas de *Streptococcus mutans* extraídas del laboratorio de microbiología de la Facultad de Medicina de la UNT. Se elaboró el aceite de *Copaifera officinalis* (copaiba) en concentraciones del 5%, 10% y 15%. El efecto antibacteriano se determinó mediante el método de difusión de Kirby y Bauer utilizando como control la clorhexidina al 2%; las medidas de los halos de inhibición se registraron en una ficha de recolección de datos. **Resultados:** El halo de inhibición para la concentración del 5% fue de 8,08mm, para la concentración al 10% fue 9,58mm, para el 15% fue 10,08mm y para el grupo control de clorhexidina fue 19mm. La prueba post hoc Duncan comparó el efecto microbiano y varía según la concentración, siendo la concentración al 5% comparado con el 10% hay una diferencia significativa mientras que la concentración del 10% y el 15% no tuvieron mucha diferencia significativa. Demostrando que el mayor efecto lo produjo la clorhexidina 19,00mm. **Conclusión:** Existe efecto antimicrobiano del acetite de *Copaifera officinalis* (copaiba) en tres diferentes concentraciones de 15%, 10%, 5% sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* ($p=0,00$).

Moromi H, et al.⁷ (Lima, 2018). Estudio in vitro del efecto antibacteriano de la oleorresina de *Copaifera reticulata* y el aceite esencial de *Origanum majoricum* frente a *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis* bacterias

de importancia en patologías orales. **Objetivo:** Determinar el efecto antibacteriano in vitro de la oleorresina de *Copaifera reticulata* (copaiba) y del aceite esencial de *Oreganum majoricum* (orégano) frente a *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*. **Metodología:** Se realizó un estudio experimental, in vitro, prospectivo, transversal. La muestra se conformó por 8 placas TSA, cuatro para *E. faecalis* y cuatro para *Streptococcus mutans*. Los discos fueron cargados con las concentraciones de 100%, 50%, 25% y 12,5%. También se colocaron dos discos uno como control positivo que fue de clorhexidina y otro de control negativo que fue el dimetilsulfoxido (DMSO) **Resultados:** La oleorresina de copaiba frente a *Streptococcus mutans* mostró un halo de inhibición de 30mm en la concentración al 100%, 25mm al 50%, 24mm al 25% y 23mm al 12,5% la clorhexidina mostró un halo de 27,3 y el control negativo 6mm. La concentración al 100% tiene mayor acción que las demás concentraciones, mayor incluso que la clorhexidina, disminuyendo igualmente su acción en cuanto hay mayor dilución del producto. **Conclusión:** La *Copaifera reticulata* (copaiba) tiene mayor efecto antibacteriano que el *Oreganum majoricum* (orégano) para ambas bacterias ($p < 0,05$).

Zavaleta Y.¹³ (Trujillo, 2018). Efecto antibacteriano comparado entre el aceite de *Copaifera officinalis* (copaiba) y oxacilina sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. **Objetivo:** Determinar el efecto antibacteriano comparado entre el aceite de *Copaifera officinalis* (copaiba) y oxacilina sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. **Metodología:** Se realizó un estudio experimental in vitro. La muestra se conformó por placas Petri con cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, aceite de *Copaifera*

officinalis (copaiba) al 75% y 50% además oxacilina. Se aplicó el método Kirby Bauer en 10 placas Petri. El grupo experimental fue tratado con aceite esencial de *Copaifera officinalis* (copaiba) y el control fue la oxacilina, realizándose la medición de los halos y registrando los datos. **Resultados:** El aceite de *Copaifera officinalis* (copaiba) al 75% tuvo un halo promedio de 13,5mm, al usar la concentración al 50% el halo promedio fue 10mm y finalmente la oxacilina obtuvo 28,5mm. El aceite de *Copaifera officinalis* (copaiba) tiene menor efecto antibacteriano que la oxacilina sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. **Conclusión:** No existió una diferencia significativa al comparar las dos concentraciones de aceite de *Copaifera officinalis* (copaiba) sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ($p>0,05$).

Tipula M.¹⁴ (Trujillo, 2016). Efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de hojas del *Piper angustifolium* (matico) sobre cepas de *Candida albicans* comparada con la nistatina, estudio in vitro. **Objetivo:** Evaluar el efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de hojas del *Piper angustifolium* (matico) sobre cepas de *Candida albicans* comparada con la Nistatina in vitro. **Metodología:** Se realizó un estudio experimental, in vitro, prospectivo. La muestra se conformó por 32 placas Petri; 8 placas para nistatina y 24 para las 3 dosis de *Piper angustifolium* (matico). El microorganismo utilizado en el ensayo fue la *Candida albicans*, el cual fue proporcionado por el Instituto de Medicina tropical e Infectología de la UNT. **Resultados:** La nistatina a las 24 horas tuvo un halo de inhibición de 22,6+1,1mm. El extracto hidroalcohólico de hojas *Piper angustifolium* (matico) al 12% obtuvo un halo inhibitorio, de

25,8+1,4mm dentro de las 24 horas, y 11,9+0,8mm (resistente) a las 48 horas. En la concentración al 10% el halo inhibitorio fue 16,8+1,3mm a las 24 horas, y 8,6+1,4mm a las 48 horas. En las primeras 24 horas, existe similitud en el efecto antifúngico de la nistatina y la concentración al 12% del extracto hidroalcohólico de hojas del *Piper angustifolium* (matico), diferenciándose con el resto de concentraciones. Al comparar la dosis mínima inhibitoria antifúngico del extracto hidroalcohólico de hojas del *Piper angustifolium* (matico) y la nistatina sobre las colonias de *Candida albicans*, solo ambos tienen el mismo efecto antifúngico en las primeras 24 horas. **Conclusión:** La dosis de nistatina de 300 microgramos y la dosis al 12% de extracto hidroalcohólico de hojas del *Piper angustifolium* (matico) tienen efecto antifúngico en las primeras 24 horas, mientras que la dosis al 10% tiene un efecto intermedio, para el resto de concentraciones es resistente.

Ramos D, Casto A.¹⁵ (Lima, 2015). Actividad antibacteriana de *Copaifera reticulata* (copaiba) sobre *Phorphyromonas gingivalis* aisladas de pacientes con periodontitis. **Objetivo:** Determinar la actividad antibacteriana de *Copaifera reticulata* (copaiba) sobre *Phorphyromonas gingivalis* aisladas. **Metodología:** Se realizó un estudio experimental, prospectivo, transversal. La muestra se conformó por 20 cepas clínicas de *P. gingivalis*, Se realizó el test de difusión en placa, con discos cargados, en las concentraciones de 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0.19%, teniendo como control positivo a la clorhexidina al 0,12 % y como control negativo al dimetilsulfoxido (DMSO). **Resultados:** Se evidenció una sensibilidad inicial y media de la *Copaifera reticulata* (copaiba) al 100% sobre *Phorphyromonas*

gingivalis, siendo su concentración mínima inhibitoria media de 13,43mm. Indica diferencias significativas ($p < 0,05$), entre las diferentes concentraciones de la *Copaifera reticulata* (copaiba) y el control positivo. **Conclusión:** La *Copaifera reticulata* (copaiba) presenta actividad antibacteriana sobre *P. gingivalis*, siendo la concentración del 100% la que presenta mayor actividad, superando a la clorhexidina al 0,12 % .

2.2. Bases teóricas de la investigación

2.2.1. Caries dental

La caries dental es una enfermedad infecciosa de etiología multifactorial la cual posee un origen infeccioso y además puede ser transmisible; es un proceso dinámico de periodos alternados de desmineralización y remineralización caracterizada por la destrucción localizada y progresiva de los tejidos duros del diente.¹⁶

La caries dental es una afección que se puede prevenir y una forma de disminuirla es usar un dentífrico que en su composición contenga flúor.¹⁶

La caries dental, es considerada en la historia como una enfermedad contagiosa que ataca diente por diente, por eso es importante que se realice una atención preventiva, y preservando las piezas dentarias.¹⁷

2.2.2. Etiología

A. La dieta

La dieta es uno de los factores que hace aparecer a la caries dental, que al formar el almidón lo que va a generar es la organización de bacterias y afectará las piezas dentarias de las personas, sin embargo, los que recién nacen al recibir su primera dieta están libres de microorganismos. Las piezas dentarias una vez erupcionadas, muchas veces quedan con restos de almidón de la dieta lo que desarrollará caries dental en el esmalte dental, esta dieta está compuesta de

glicoproteínas de la saliva por lo que cuando la persona tiene una mala higiene, las superficies de los dientes, acumularán bacterias.¹⁸

B. Factores relacionados con el huésped

- **Saliva:** Es un fluido que contiene fósforo y calcio, además de, flúor, proteínas, inmunoglobulinas, agentes amortiguadores, enzimas, entre otros. En la saliva, el flúor se muestra en bajas concentraciones, sin embargo, presenta una gran importancia en el momento de la remineralización, ya que, al combinarse con los cristales del esmalte dental, forma fluorapatita, el cual es un compuesto mucho más resistente al ataque de los ácidos generado por las bacterias. Además, el pH salival baja de manera rápida dentro de los primeros minutos luego de ingerir carbohidratos, luego de 30 minutos regresa a sus niveles normales.^{18,19}
- **Microflora:** Dentro de las grandes cantidades y variedades de microorganismos que encontramos en la cavidad bucal, se encuentran bacterias del género *Streptococcus*, dentro de las cuales están los *Streptococcus mutans* y *Streptococcus mitis*, también se encuentran *Rothia dentocariosa*, los cuales, han sido asociados a la caries dental.^{17,18}
- **Flora microbiana:** La cavidad bucal, sirve de hábitat para un aproximado de 700 especies que se encuentran colonizando mucosas y superficies dentarias en donde se forma el biofilm dental, dentro de los cuales, se encuentran los del género *Streptococcus*.¹⁸

- **Colonización bacteriana:** Para que se genere una lesión cariosa, es importante que primero se dé la adhesión inicial de bacterias sobre la superficie del esmalte dental. Para que la colonización se dé, antes, debe formarse una película muy fina de proteínas salivales sobre el esmalte dental, comúnmente llamada, película adquirida.¹⁹

2.2.3. *Streptococcus mutans*

El *Streptococcus mutans* es una de las tantas bacterias que son Gram positivas, que va a estar estructuralmente compuesta por una cadena larga y corta, que no tiene movimiento, y que no presentan cápsula, dentro de su interior se encuentra las glucotransferasas con un peso de moléculas alto como también bajo, esta bacteria lo que va a generar es ácido láctico cambiando así el pH salival en boca entre un 7 y 4.2, durante las 24 horas.²⁰

El *Streptococcus mutans* es la bacteria que está íntimamente relacionada con la caries dental, es la responsable de iniciarla.¹⁹

La caries dental puede causar bacteremia, así como también endocarditis infecciosa. El papel de los *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*, en la aparición de caries dental ha sido evidenciado.¹⁹

- **Factores de patogenicidad**

Los *Streptococcus mutans*, presentan un gran poder acidógeno, acidófilo y acidúrico, también sintetizan polisacáridos extracelulares como los glucanos solubles e insolubles, además de fructanos.

Sintetizan a los polisacáridos extracelulares; presentan una capacidad adhesiva, sobre todo en proteínas de la saliva que facilitan su adhesión a las superficies dentarias o superficies de materiales de restauración, en ausencia de glucanos, predominando su capacidad agregativa y coagregativa a través de los mutanos y glucosiltransferasas.^{19,20}

▪ **Se sub clasifica en los siguientes serotipos:**

- *Streptococcus mutans*: c,e,f y k.
- *Streptococcus sobrinus*: d y g.
- *Streptococcus cricetus*: a.
- *Streptococcus rattus*: a
- *Streptococcus ferus*: c
- *Streptococcus macacae*: en c
- *Streptococcus downet*: en h.²⁰

▪ **Medios de cultivo**

Afortunadamente, muchas de las especies de *Streptococcus* orales pueden aislarse usando distintos medios: Medios selectivos para *Streptococcus* orales: Agar Mitis Salivarius, su uso ha prevalecido sobre otros medios de cultivo para el aislamiento de estreptococos orales, conteniendo al *Streptococcus mutans*, los *Streptococcus* orales pueden distinguir por su habilidad para fermentar algunos azúcares (especialmente manitol y sorbitol) y por adherirse a superficies lisas

en presencia de sacarosa.²⁰

El cultivo en agar es considerado como el estándar de oro ya que permite realizar recuentos bacterianos para establecer proporciones relativas, mediante métodos cuantitativos en medios no selectivos.²¹

Al presente tenemos 5 medios de cultivo distintos para el aislamiento de *Streptococcus mutans*, tales como: Agar glucosa-sacarosa-telurito bacitracina, Agar tripticasa de soya con sacarosa, Agar mitis salivarius con bacitracina y kanamicina, Agar mitis salivarius con bacitracina, bacitracina y Agar triptona extracto de levadura cisteína con sacarosa y bacitracina.²²

2.2.4. Plantas medicinales

Hoy en día, el uso de las plantas naturales se ha vuelto muy importante, dado que en diversos estudios se demostró su actividad antimicrobiana en el tratamiento preventivo de enfermedades, debido a sus propiedades y principios activos.²²

Los estudios sobre plantas naturales han estado en aumento durante los años, y que es por sus compuestos, que brindan muy buenos efectos en la terapia clínica y son seguros porque no presentan efectos adversos.²³

2.2.5. *Copaifera officinalis*

La copaiba, viene a ser un árbol, que mide unos 40 metros de altitud. Según la literatura muestra que existen 72 especies de la llamada copaiba en todo el mundo. Por lo que de este árbol se va a extraer un aceite

llamado aceite de copaiba, que tiene muchas propiedades que se usa últimamente en la medicina ya que presenta efectos antiinflamatorios, cicatrizantes, antimicrobianas y antisépticos, y que es usado como agente para prevenir y tratar enfermedades.⁸

A. Actividad antiinflamatoria

La actividad antiinflamatoria que presenta la copaiba es buena, tanto así que se ha evidenciado *in vitro* que puede inhibir las 5 lipoxigenasas, que viene a ser una enzima, por otro lado, también esta evidenciado que, no inhibe *in vitro* la elastasa, que es una proteasa muy importante en los neutrófilos que es fundamental en la patogénesis de trastornos de origen inflamatorio.²⁴

B. Actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana, viene a ser la propiedad que últimamente se ha visto estudiada, porque durante estos estudios en muchas bacterias diferentes se ha visto su efecto, como por ejemplo el *Streptococcus mutans*, etc., también se ha visto su efecto en la *Candida albicans*.²⁴

C. Composición química

La oleorresina de copaiba, es un aceite de color transparente y un poco viscoso, presenta una mezcla de sesquiterpenos y diterpenos.²⁴

Los sesquiterpenos, son una de las principales sustancias que se encuentran en el aceite de copaiba, representando en muchas

ocasiones más del 90% de su composición. Además, es el responsable de muchas de sus actividades farmacológicas. Los principales sesquiterpenos que se encuentran en el aceite de copaiba son los β -cariofileno, óxido de cariofileno, α -humuleno, δ -cadineno, α -cadinol, α -cubebene, α - y β -selineno, β -elemene, α -copaeno, *trans*- α -bergamoteno y β -bisaboleno. Asimismo, otros sesquiterpenos como el β -cadineno, se encarga de inhibir el crecimiento de *Streptococcus mutans*, una de las bacterias más cariogénicas de la cavidad oral.²⁴

Los diterpenos más comunes encontrados en el aceite de copaiba son los copálicos, polyalthia, hardwickii, kaurenoico y en ácidos kaurenoic, junto con sus derivados de 3-hidroxi-copalic, 3-acetoxi-copalic, y *ent* agathic. El ácido copálico es el diterpeno más activo, y ha demostrado en varios estudios un valor de CIM muy prometedor contra las *Porphyromonas gingivalis*, las cuales son responsables de la enfermedad periodontal. Además, no presenta actividad citotóxica en fibroblastos humanos. También, el ácido copálico es activo contra las principales bacterias responsables de la caries dental como el *Streptococcus salivarius*, *S. sobrinus*, *S. mutans*, *S. mitis*, *S. sanguinis* y *Lactobacillus casei*.²⁴

2.2.6. *Piper aduncum*

La planta *Piper*, también es llamado matico, que evidencian según estudios, que esta especie y su variedad se encuentran sin referencia y que

también no se encuentra clasificada en su género ni subgénero naturalmente. Y que se da por una igualdad de morfología.^{25,26}

A. Descripción

Esta planta pertenece a la división *Tracheophyta* por ser de tipo vascular y de distribución tropical, el género *Piper* debe su nombre a la palabra griega *peperi*, que significa pimienta, por lo cual en países fuera de Latinoamérica *P. aduncum* se conoce como pimienta con picos.²⁶

Las hojas de esta planta van a medir un aproximado de 12 cm a 22 cm de largo y de ancho va a medir 49 cm; del tallo es donde nace la espiga de esta planta, que va a medir de 6 a 16 cm de largo, con flores blancas, espiral, bisexual. Su fruto, viene a ser una drupa de forma ovoide plano color pardo.²⁶

B. Componentes

Las hojas de esta planta presentan terpenoides, monoterpenos, siendo abundante el llamado el linalol, por otro lado, está los irinoides que tienen propiedades antibacterianas. Los sesquiterpenos del aceite esencial tienen propiedad bactericida.²⁷

Estudios previos detallan efectos antiprotozoarios, antihelmínticos, antioxidantes e insecticidas además de antimicrobianos debido a la presencia de monoterpenos y sesquiterpenos, en concreto piperitona, alcanfor y viridiflorol fueron los principales componentes.²⁷

C. Localización

El *Piper aduncum* se encuentra de manera silvestre en varios sitios del país, abarca tanto especies herbáceas y leñosas de áreas tropicales. Este género ocupa un promedio de 700 especies.²⁶

En el Perú, en el departamento de Amazonas podemos encontrar a la gran mayoría de variedades del género *Piper* encontrándose 210 especies, 2 subespecies, y 33 variedades que crecen entre 1500 msnm a 2 000 msnm, en bosques con neblina. Los taninos contribuyen a su actividad cicatrizante; los flavonoides tienen propiedades antioxidantes y protectoras de la membrana celular.²⁷

III. Hipótesis

Hipótesis de investigación:

- ✓ **H_i:** Los extractos hidroetanólicos de hojas de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) tienen efecto antibacteriano frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019.

Hipótesis estadísticas

Hipótesis nula:

- ✓ **H₀:** Los extractos hidroetanólicos de hojas de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) no tienen efecto antibacteriano frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019.

Hipótesis alterna:

- ✓ **H₁:** Los extractos hidroetanólicos de hojas de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) sí tienen efecto antibacteriano frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019.

IV. Metodología

4.1 Diseño de la investigación

Tipo de investigación

Según el enfoque es cuantitativo

- Hernández R, Fernández C, Baptista M. (2014) Utilizó la recolección de datos, con base en la medición numérica y el análisis estadístico, para establecer patrones de comportamiento y probar teorías.²⁸

Según la intervención del investigador es experimental.

- Supo J. (2014) Analizó el efecto producido por una o más variables independientes sobre una o varias dependientes.²⁹

Según la planificación de la toma de datos es prospectivo.

- Supo J. (2014) Los datos necesarios para el estudio fueron recogidos a propósito de la investigación (primarios). Por lo que, posee control del sesgo de medición.²⁹

Según el número de ocasiones en que mide la variable es transversal.

- Supo J. (2014) La variable fue medida en una sola ocasión; por ello de realizar comparaciones, se trata de muestras independientes.²⁹

Según el número de variables de interés es analítico.

- Supo J. (2014) El análisis estadístico por lo menos es bivariado; porque plantea y pone a prueba hipótesis, su nivel más básico establece la asociación entre factores.³⁹

Nivel de investigación

La presente investigación es de nivel explicativo.

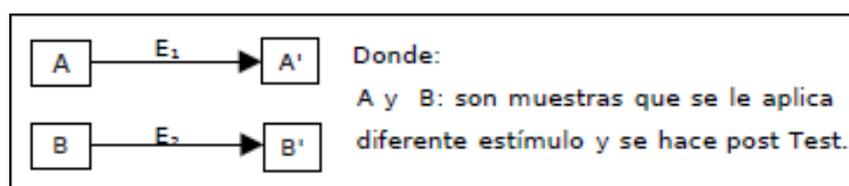
- Supo J. (2014) Explica el comportamiento de una variable en función de otra; por ser estudios de causa-efecto requieren control. El control estadístico es multivariado a fin de descartar asociaciones aleatorias, casuales o espurias entre la variable independiente y dependiente.²⁹

Diseño de investigación

La investigación es de diseño experimental puro de grupos en paralelo.

- Hernández R, Fernández C, Baptista M. (2014) se tomaron grupos de estudio, luego a cada grupo se le dio un estímulo diferente y se hizo un post test.²⁸

- Esquema de investigación



4.2 Población y muestra

Población:

Estuvo conformada por cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Criterios de selección:

Criterios de inclusión:

- Cepas de *Streptococcus mutans* conservadas y en buen estado.
- *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) frescas y de buenas características organolépticas.

Criterios de exclusión

- Cepas de *Streptococcus mutans* sin refrigeración, en mal estado.
- Medios de cultivos sin algún crecimiento bacteriano.
- *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) en mal estado con características organolépticas inaceptables.

Muestra

Estuvo conformada por 10 repeticiones para cada grupo experimental: 10 repeticiones para *Copaifera officinalis* (copaiba) al 20% y 40%; 10 repeticiones para *Piper aduncum* (matico) al 20% y 40%; 10 repeticiones para el extracto mixto *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) al 20% y 40%; 10 repeticiones para control positivo Clorhexidina 0,12% y 10 repeticiones para control negativo Etanol 70°; todas las repeticiones sobre

cepas de *Streptococcus mutans*.

Por ser un estudio *in-vitro* la población se considera infinita, por lo cual el tamaño de la muestra se determinó por la siguiente fórmula:

- Fórmula:

$$n = 2 \left(\frac{Z_{\alpha}}{2} + Z_{\beta} \right)^2 (DE)^2 / d^2$$

Dónde:

n: tamaño de muestra para el grupo de estudio.

α : probabilidad de cometer error tipo I.

β : probabilidad de cometer error tipo II.

Z: valor estándar de la distribución normal asociada a un tipo de error.

DE: desviación estándar.

d: diferencia entre promedios para rechazar igualdad de medias.

Requerimientos:

De una confianza al 95% ($\alpha=0.05$, $Z=1.96$), y una potencia en la prueba del 80% ($\beta=0.20$, $Z=0.84$), para ($DE/d=0.80$).

$$n = 2(1.96 + 0.84)^2(0.8)^2$$

$$n = 10$$

Muestreo

El muestreo fue no probabilístico por conveniencia: las unidades de estudio son seleccionados dada la conveniencia, accesibilidad y proximidad con el investigador.²⁸

4.3 Definición y operacionalización de variables e indicadores

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	INDICADOR	ESCALA DE MEDICIÓN		VALORES
			TIPO	ESCALA	
Extracto hidroetanólico de <i>Copaifera officinalis</i> (copaiba)	Resultado del proceso de extracción del principio activo de los componentes de la resina para obtener el extracto. ²⁴	Concentración del extracto	Cuantitativa	Razón	20% 40%
Extracto hidroetanólico de <i>Piper aduncum</i> (matico)	Resultado del proceso de extracción del principio activo de los componentes de las hojas para obtener el extracto. ²⁶	Concentración del extracto	Cuantitativa	Razón	20% 40%
Efecto Antibacteriano sobre <i>Streptococcus mutans</i>	Bacilo Gram Negativo anaerobio, asacrolítico Ampliamente reconocido como un factor predominante en la periodontitis en humanos. Capacidad de inhibir el crecimiento y desarrollo de las bacterias o su eliminación. ²⁰	Medida de Halo de inhibición	Cuantitativa	Razón	mm.

4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Técnica

Observación experimental: Esta técnica permitió analizar los resultados obtenidos en la difusión en discos.

Instrumento

Se utilizó un Vernier calibrador micrómetro, el cual es un instrumento calibrado diseñado para medir la unidad de medida de longitud y confiable porque es un instrumento calibrado, certificado con el estándar de calidad de fibra de carbono de 150mm/6 pulgadas LCD Digital eléctrico. Marca: MODAVELA, Modelo: VF15, calibrado y validado con ISO 13385-2:2011.

(Anexo 01)

La ficha de recolección de datos fue adaptada de la investigación de Godoy J.¹² Actividad antimicrobiana In vitro del aceite esencial de *Copaifera officinalis* (Copaiba) sobre *Streptococcus mutans*, Chimbote, 2017; su aplicación fue de fácil uso.

Procedimiento

Inicialmente se gestionó una carta de presentación ante el Director de la Escuela de Odontología de la Universidad Los Ángeles de Chimbote – ULADECH, para poder ejecutar la investigación. (Anexo 02)

Obtención de los extractos hidroetanólicos

El árbol de *Copaifera officinalis* procedió de la provincia de Tarapoto, Departamento de San Martín; y *Piper aduncum* procedió del herbario de la Universidad Nacional de Trujillo, certificándose que no recibió ningún tipo de pesticida.

De la obtención e identificación taxonómica de las especies vegetales

Se recolectó 2 kg de las hojas de de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico).

Luego, un ejemplar completo (árbol) de cada una de las especies vegetales se llevó al Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo para su identificación taxonómica.

De la preparación de la muestra vegetal

Selección: Cada una de las muestras vegetales recolectadas fueron transportadas al laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo.

Lavado: Luego se procedió a lavar cada una de las hojas con agua destilada y luego se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 0,5%.

Secado: Las hojas de ambas muestras vegetales fueron colocadas en papeles Kraft, y se llevó a secar a una estufa de circulación de aire por convección forzada (40°C) por 48 horas.

Pulverización: Las hojas de ambas muestras vegetales fueron pulverizadas

con ayuda de un mortero.

Tamizaje: Luego las hojas de ambas muestras vegetales, fueron tamizadas a través del tamiz de malla N° 20.

Almacenamiento: El polvo de las hojas de ambas muestras vegetales fueron guardado en sus respectivos frascos de vidrio de color ámbar de boca ancha.

Preparación de los extractos etanólico de las hojas de *Copaifera officinalis* y *Piper aduncum*

Se colocó 100gr de hojas secas, pulverizadas y tamizadas de cada especie vegetal, en sus respectivos recipientes de vidrio de boca ancha color ámbar. Luego, se añadió etanol de 70° G.L. cantidad suficiente hasta cubrir la muestra por sobre 2 cm de altura. Se mezcló bien, teniendo en cuenta que la mezcla debe ocupar como máximo las $\frac{3}{4}$ partes del recipiente. Se taparon los recipientes y se macerarán por 7 días, agitándose 15 minutos, dos veces al día.

Transcurrido el tiempo de maceración, se filtró el macerado usando una bomba de vacío, con papel de filtro Whatman N° 1. Al líquido filtrado se le denominó extracto etanólico.

A continuación, cada extracto etanólico se concentró en un rotavapor hasta obtener una masa siruposa. Esta se llevó a secar a la estufa a 40°C. Al producto resultante se le denominó extracto seco.

De estos, se preparó las concentraciones de 20%, 40 de copaiba ,20%, 40% de matico y mixta de 20%, 40% disueltas en agua destilada estéril. Finalmente, los extractos etanólicos de cada muestra vegetal fueron guardados en frascos

de vidrio de color ámbar y en refrigeración (4-8°C) hasta su utilización.³⁰

Evaluación del efecto del extracto hidroetanólico de las hojas de *Copaifera officinalis* y *Piper aduncum* frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Reactivación de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Para este estudio se utilizó cultivo liofilizado de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. La reactivación se realizó sembrando el cultivo liofilizado en tubo con 5 mL de Caldo Brain Heart Infusion (BHI) o Cerebro Corazón Infusión, luego se incubó a 37°C por 24 – 48 horas en condiciones de microaerofilia.

Para evaluar pureza se sembró por estría en Agar TSYB e incubó a 37°C por 24 – 48 horas en condiciones de microaerofilia. Posteriormente se eligió una colonia compatible con *Streptococcus mutans* para realizar coloración gram.

A partir de una colonia se sembró en caldo BHI y en Agar Tripticasa Soya (TSA), y se conservó hasta su posterior empleo.

Evaluación del efecto antibacteriano mediante el método de Kirby Bauer.

La evaluación del efecto antibacteriano, se realizó mediante el método Kirby Bauer, de difusión en agar.³¹

Para lo cual se procedió de la siguiente manera:

Estandarización del inóculo de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

La cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mantenida en Caldo BHI se sembró en Agar TSA, se incubó bajo condiciones de microanaerobiosis a 37°C

durante 24 horas. Luego de 24 horas de 3 a 4 colonias de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 se diluyó en caldo BHI o solución salina fisiológica estéril hasta obtener una turbidez semejante al tubo número 0,5 del Nefelómetro de Mac Farland ($1,5 \times 10^8$ ufc/mL).

Inoculación de las placas

Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo ($1,5 \times 10^8$ ufc/ml), se tomó una alícuota de 100µl y se colocó en cada una de las placas con Agar Müeller Hinton, con un hisopo estéril sumergido en la suspensión se distribuyó la suspensión bacteriana en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo en la placa. Se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido.³¹

Preparación de los discos con los extractos hidroetanólico de las hojas de *Copaifera officinalis* y *Piper aduncum*

Se preparó discos de papel filtro whatman número 6 estériles, los cuales fueron embebidos con 50ul de cada una de las concentraciones de 20, y 40% del extracto hidroetanólico *Copaifera officinalis* y 20 y 40% de extracto hidroetanólico de *Piper aduncum*. Y al 20% y 40% de extracto hidroetanólico mixto. Luego, con una pinza estéril, fueron colocados los discos sobre las placas de Müeller Hinton inoculadas con la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.³¹

Se empleó como control positivo Gluconato de clorhexidina al 0,12% y como control negativo alcohol 70°.

Incubación:

Se incubó las placas en posición invertida dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de los discos, a 37°C durante 24 y 48 horas en microanaerobiosis utilizando jarra Gaspak y con el método de la vela.

Lectura de los resultados

Después del tiempo de incubación 24 a 48 horas se examinó cada placa se midió los diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento alrededor de cada disco. para lo cual se utilizó regla milimetrada, abarcando el diámetro del halo.³²

Se realizó 10 repeticiones de cada ensayo.

Evaluación de la acción antibacteriana de la preparación mixta de los extractos hidroetanólicos de *Copaifera officinalis* y *Piper aduncum* frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Para evaluar la acción mixta o sinérgica del extracto hidroetanólico de la copaiba y de matico se empleó combinaciones de varias concentraciones de cada uno de los extractos hidroetanólicos, mediante el método de Kirby Bauer. Estas mezclas se probaron frente a *Streptococcus mutans* teniendo en cuenta la metodología de Al Walli et al.³². De acuerdo a los resultados obtenidos al evaluarlos por separado.

Se realizó 10 repeticiones de cada una de las concentraciones.

4.5 Plan de análisis

La información registrada en la ficha de recolección de datos fue ingresada a una base de datos en MS Excel 2016, donde se ordenó y organizó los datos. Luego se exportó al software estadístico IBM SPSS v.24 donde se realizó el tratamiento estadístico univariado y bivariado.

Se verificó que los datos cuentan con distribución normal, mediante la prueba de Shapiro-Wilk al ser una muestra pequeña de 10 repeticiones por grupo; en base a ello se aplicó la prueba estadística no paramétrica.

Análisis univariado: Se utilizó la estadística descriptiva para presentar las medidas de tendencia central (media,) y las medidas de dispersión (desviación estándar); asimismo permitió elaborar las tablas y gráficos; para la comparación entre dos variables se utilizó la prueba t-Student.

Análisis bivariado: Se utilizó la estadística inferencial, para el análisis entre las variables se utilizó la prueba paramétrica ANOVA, con un nivel de confianza del 95% y una significancia del 5% ($p < 0,05$); para la comparación múltiple se utilizó la prueba post hoc de Duncan.

El análisis de resultados se realizó acorde a los objetivos planteados, realizando la contrastación con los antecedentes; luego se formularon las conclusiones y recomendaciones.

4.6 Matriz de consistencia

TÍTULO: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE HOJAS DE *Copaifera officinalis* (COPAIBA) Y *Piper aduncum* (MATICO) FRENTE A CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175, DISTRITO DE TRUJILLO, PROVINCIA DE TRUJILLO, DEPARTAMENTO DE LA LIBERTAD, 2019

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	VARIABLE	HIPÓTESIS	METODOLOGÍA
<p align="center">¿Cuál es el efecto antibacteriano del Extracto hidroetanólico de hojas de <i>Copaifera officinalis</i> (copaiba) y <i>Piper aduncum</i> (matico) frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019?</p>	<p align="center">Objetivo General:</p> <p>1. Determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de hojas de <i>Copaifera officinalis</i> (copaiba) y <i>Piper aduncum</i> (matico) frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019.</p> <p align="center">Objetivos Específicos:</p> <p>1. Determinar el efecto antibacteriano del extracto de <i>Copaifera officinalis</i> (copaiba) al 20% y 40% frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019.</p> <p>2. Determinar el efecto antibacteriano del extracto de <i>Piper aduncum</i> (matico) al 20% y 40% frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019.</p> <p>3. Determinar el efecto antibacteriano del extracto mixto de <i>Copaifera officinalis</i> (copaiba) y <i>Piper aduncum</i> (matico) frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019.</p> <p>4. Comparar el efecto antibacteriano del extracto <i>Copaifera officinalis</i> (copaiba) y <i>Piper aduncum</i> (matico) frente con la Clorhexidina al 0,12% y Etanol 70° frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019.</p>	<p align="center">Efecto antibacteriano.</p> <p align="center"><i>Copaifera officinalis</i> (copaiba)</p> <p align="center"><i>Piper aduncum</i> (matico)</p> <p align="center"><i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</p>	<p align="center">Hipótesis de Investigación:</p> <p>Hi: Los extractos hidroetanólicos de hojas de <i>Copaifera officinalis</i> (copaiba) y <i>Piper aduncum</i> (matico) tienen efecto antibacteriano frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019.</p> <p align="center">Hipótesis Nula:</p> <p>Ho: Los extractos hidroetanólicos de hojas de <i>Copaifera officinalis</i> (copaiba) y <i>Piper aduncum</i> (matico) no tienen efecto antibacteriano frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019.</p>	<p align="center">Tipo y nivel de Investigación.</p> <p>El tipo de la investigación es cuantitativa, experimental, prospectivo, transversal y analítico.</p> <p align="center">De nivel explicativo.</p> <p align="center">Diseño de investigación</p> <p>Experimental puro (grupos en paralelo).</p> <p align="center">Población y muestra</p> <p>La población y la muestra estuvo conformada por 10 repeticiones para cada grupo sobre <i>Streptococcus mutans</i>. Muestreo no probabilístico por conveniencia</p> <p align="center">Técnica: Observación experimental.</p>

4.7 Principios éticos

La investigación siguió los principios bioseguridad, en todo momento hubo supervisión de un especialista en microbiología.

La investigación tomó en cuenta los principios del Código de Ética para la Investigación v.004, aprobado con Resolución N° 0037-2021-CU-ULADECH de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote.

- **Cuidado del medio ambiente y respeto a la biodiversidad:** Toda investigación debe respetar la dignidad de los animales, el cuidado del medio ambiente y las plantas, por encima de los fines científicos; y se deben tomar medidas para evitar daños y planificar acciones para disminuir los efectos adversos y tomar medidas para evitar daños.³³
- **Justicia:** El investigador debe anteponer la justicia y el bien común antes que el interés personal. Así como, ejercer un juicio razonable y asegurarse que las limitaciones de su conocimiento o capacidades, o sesgos, no den lugar a prácticas injustas. El investigador trata equitativamente a quienes participan en los procesos, procedimientos y servicios asociados a la investigación, y pueden acceder a los resultados del proyecto de investigación.³³
- **Integridad científica:** El investigador evita el engaño en todos los aspectos de la investigación; evalúa y declara los daños, riesgos y beneficios potenciales que puedan afectar a quienes participan en la investigación. Asimismo, el investigador procede con rigor científico, asegurando la validez de sus métodos, fuentes y datos. Además, garantiza la veracidad en todo el proceso de investigación, desde la formulación, desarrollo, análisis, y comunicación de los resultados.³³

V. Resultados

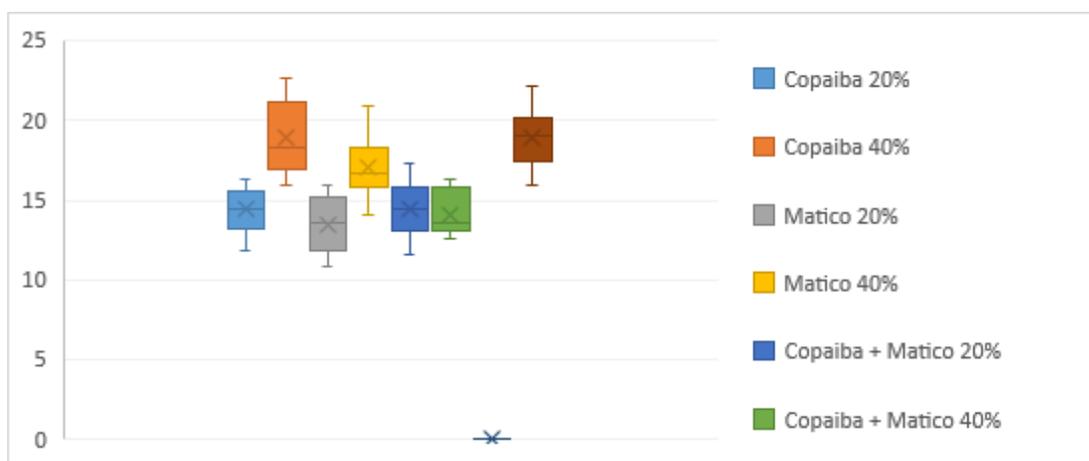
5.1. Resultados:

Tabla 1.- Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de hojas de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019

Tratamientos	N	Diámetro (mm)		F	Sig. (p)*
		Media	Desviación típica		
Copaiba 20%	10	14,40	1,40	128,5	0,000
Copaiba 40%	10	18,97	2,30		
Matico 20%	10	13,52	1,82		
Matico 40%	10	17,02	1,71		
Copaiba + Matico 20%	10	14,40	1,69		
Copaiba + Matico 40%	10	14,10	1,34		
Control Negativo (Etanol 70°)	10	0	0		
Clorhexidina 0.12%	10	18,95	1,92		

Fuente: Datos propios obtenidos de medición.

p*: prueba ANOVA, nivel de significancia estadística ($p < 0.05$)



Fuente: Datos de la tabla 01.

Gráfico 1.- Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de hojas de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019

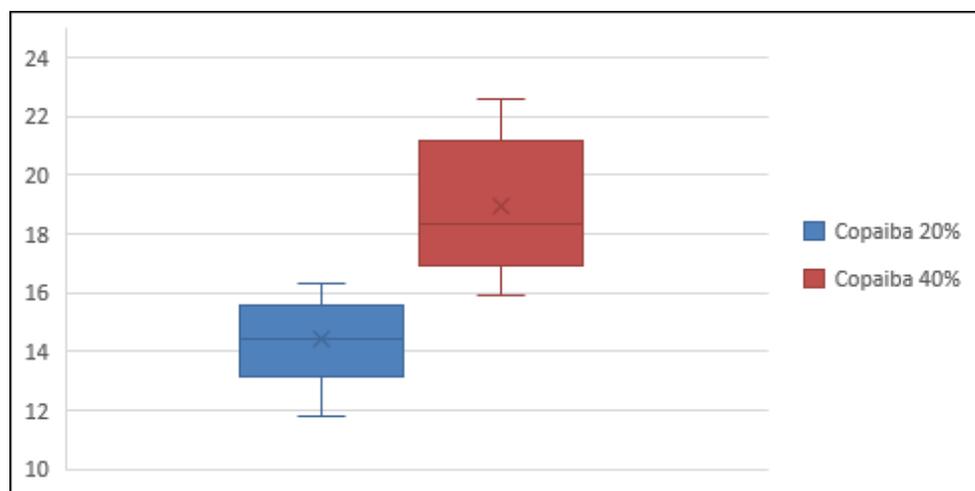
Interpretación: Se observó que el control positivo Clorhexidina 0,12% produjo el mayor halo de inhibición con 18,95mm; seguido de la concentración copaiba al 40% con un halo de 18,97mm; luego el matico al 40% con una media de halo de 17,02mm, el extracto mixto de copaiba + matico al 20% con un halo de 14,40mm; de igual forma, la copaiba al 20% con un halo de 14,40mm; luego el extracto mixto de copaiba + matico al 40% con una halo promedio de 14,10mm; el matico al 20% con una media de 13,52mm y el etanol 70° (C-) no registró una media halo de inhibición 0,00mm.

La prueba paramétrica ANOVA mostró una significancia estadística $p = 0,000 < 0,05$; por lo cual, como el valor p es menor que 0,05 entonces se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis de investigación, demostrando que si existe efecto inhibitorio y diferencia estadística entre los tratamientos experimentales y grupos de control.

Tabla 2.- Efecto antibacteriano del extracto de *Copaifera officinalis* (copaiba) al 20% y 40% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019

Halo de inhibición	N	Media	DS	Error estándar	95% IC		Mín	Máx
					Lím inf	Lím sup		
Copaiba 20%	10	14,4	1,40	0,44	13,40	15,41	11,8	16,3
Copaiba 40%	10	18,97	2,30	0,73	17,32	20,62	15,9	22,6

Fuente: Ficha de recolección de datos.



Fuente: Datos de la tabla 02.

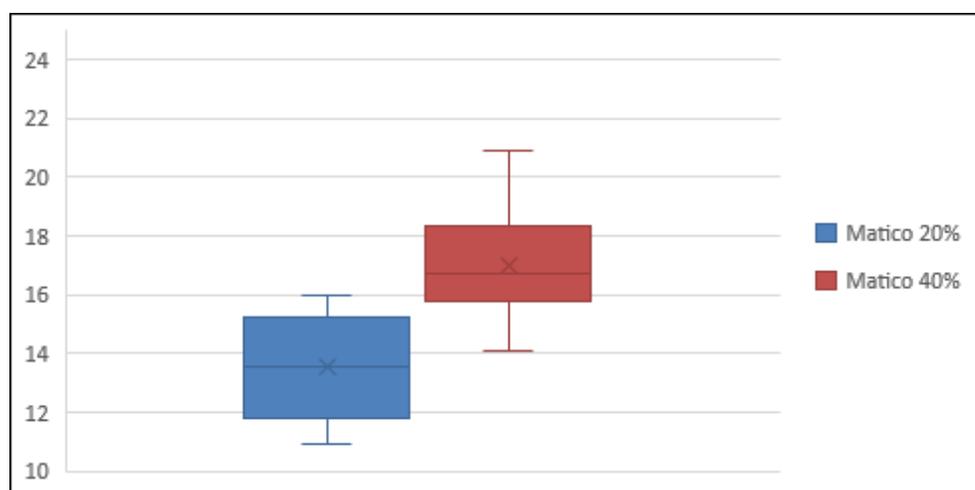
Gráfico 2.- Efecto antibacteriano del extracto de *Copaifera officinalis* (copaiba) al 20% y 40% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019

Interpretación: Se observó que, el extracto de *Copaifera officinalis* (copaiba) al 20% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 presentó en promedio un halo de inhibición de 14,4mm; asimismo, el extracto de *Copaifera officinalis* (copaiba) al 40% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 presentó en promedio un halo de inhibición de 18,97mm.

Tabla 3.- Efecto antibacteriano del extracto de *Piper aduncum* (matico) al 20% y 40% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019

Halo de inhibición	N	Media	DS	Error estándar	95% IC		Mín	Máx
					Lím inf	Lím sup		
Matico 20%	10	13,52	1,83	0,58	12,21	14,83	10,9	16
Matico 40%	10	17,02	1,91	0,61	15,65	18,39	14,1	20,9

Fuente: Ficha de recolección de datos.



Fuente: Datos de la tabla 03.

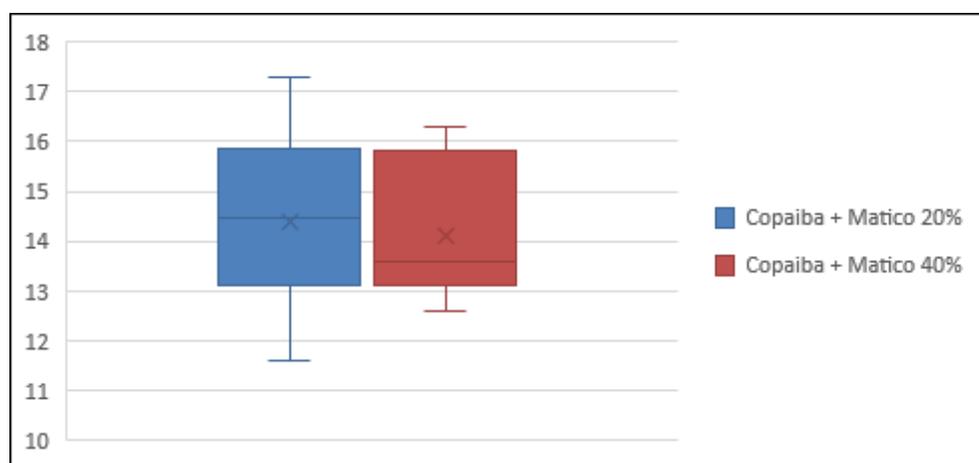
Gráfico 3.- Efecto antibacteriano del extracto de *Piper aduncum* (matico) al 20% y 40% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019

Interpretación: Se observó que, el extracto de *Piper aduncum* (matico) al 20% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 presentó en promedio un halo de inhibición de 13,52mm. El extracto de *Piper aduncum* (matico) al 40% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 presentó una media del halo de inhibición de 17,02 mm.

Tabla 4.- Efecto antibacteriano del extracto mixto de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019

Halo de inhibición	N	Media	DS	Error estándar	95% IC		Mín	Máx
					Lím inf	Lím sup		
Copaiba + Matico 20%	10	14,4	1,70	0,54	13,19	15,61	11,6	17,3
Copaiba + Matico 40%	10	14,1	1,34	0,43	13,14	15,06	12,6	16,3

Fuente: Ficha de recolección de datos



Fuente: Datos de la tabla 04.

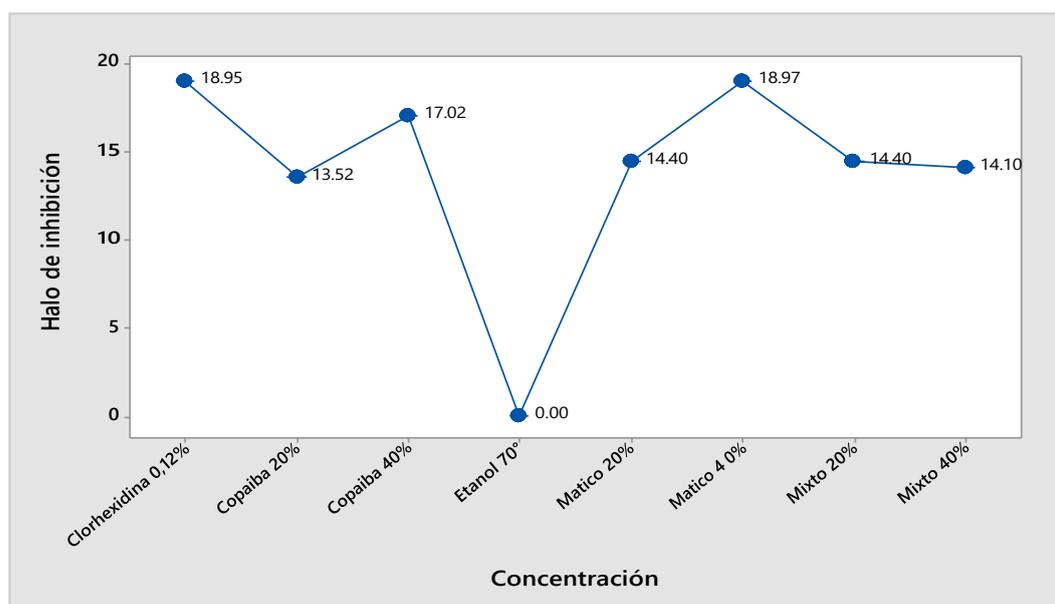
Gráfico 4.- Efecto antibacteriano del extracto mixto de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019

Interpretación: Se observó que, el extracto mixto del extracto hidroetanólico de las hojas de *Copaifera officinalis* y *Piper aduncum* al 20% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 presentó un halo de inhibición promedio de 14,4mm. Y el extracto mixto del extracto hidroetanólico de las hojas de *Copaifera officinalis* y *Piper aduncum* al 40% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 presentó un halo de inhibición promedio de 14,1mm.

Tabla 5.- Comparación del efecto antibacteriano del extracto *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) frente con la Clorhexidina al 0,12% y Etanol 70° frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05 - (Test Duncan)			
		1	2	3	4
Control Negativo (Etanol 70)	10	0			
Matico 20%	10		13,52		
Copaiba + Matico 40%	10		14,1		
Copaiba 20%	10		14,4		
Copaiba + Matico 20%	10		14,4		
Matico 40%	10			17,02	
Clorhexidina 0.12%	10				18,95
Copaiba 40%	10				18,97
Sig.		1,000	0,294	1,000	9,790

Fuente: Prueba Post Hoc Duncan.



Fuente: Datos de la tabla 05.

Gráfico 5.- Comparación el efecto antibacteriano del extracto *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) frente con la Clorhexidina al 0,12% y Etanol 70° frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019

Interpretación:

La prueba estadística Post Hoc Duncan permitió comparar el efecto antibacteriano del extracto *Copaifera officinalis* y *Piper aduncum* con la Clorhexidina al 0,12% y etanol 70° frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175; demostrando los tratamientos Matico 20%, Copaiba + Matico 40%, Copaiba 20%, Copaiba + Matico 20%, presentan similitud en sus halos de inhibición. Asimismo, el tratamiento de Matico al 40%, no presenta similitud con tratamiento alguno. Mientras que, los tratamientos Clorhexidina 0.12% y Copaiba 40% presentan similitud y son quienes presentan mayor halo de inhibición.

5.2. Análisis de resultados

- Los resultados de la investigación lograron determinar mediante la prueba estadística ANOVA ($p=0,000$) que el extracto de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) al 20% y 40% tienen efecto antibacteriano sobre el crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Nuestros resultados coinciden con los estudios realizados por Pieri A, et al.⁶ (Brasil, 2016), Simoes C, et al.⁸ (Brasil, 2016), Froés M, et al.⁹ (Brasil, 2015), Mendoza M.¹⁰ (Trujillo, 2019), Tapia V.¹¹ (Trujillo, 2019), Godoy J.¹² (Chimbote, 2018), Moromi H., et al.⁷ (Lima, 2018) y Zavaleta Y.¹³ (Trujillo, 2018) quienes concuerdan que los extractos presentan efecto antibacteriano sobre las cepas. Por lo que se puede asumir que, a mayor concentración del extracto, mayor es el efecto antibacteriano que demuestran sobre cepas *Streptococcus mutans*. Por ello corroboramos la evidencia científica que indica que tanto el extracto de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) ayudan combatir el *Streptococcus mutans*, el cual es el principal cariogénico de la cavidad bucal, dado que coloniza el nicho de fosas y fisuras, produciendo gran diversidad de factores de virulencia y está asociado a una dieta cariogénica que condiciona su infecciosidad. Debido a las propiedades medicinales y sus efectos atribuidos de la copaiba y del matico en la medicina popular que incluyen actividades antiinflamatorias, antitetánicas, antitumorales, antiblenorrágicas y antisépticas urinarias.²⁴
- Asimismo, los resultados permitieron observar que el extracto de *Copaifera officinalis* (copaiba) en concentración al 20% y 40% presentó

mayor halo de inhibición en comparación de la concentración al 40%, ambos frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175; además presentaron efecto antibacteriano ($p=0,000$). Estos valores se asemejan con lo evidenciado en los estudios de Pieri A, et al.⁶ (Brasil, 2016), Simoes C, et al.⁸ (Brasil, 2016), Godoy J.¹² (Chimbote, 2018), Moromi H, et al.⁷ (Lima, 2018), Zavaleta Y.¹³ (Trujillo, 2018) y Ramos D, Casto A.¹⁵ (Lima, 2015) quienes hallaron que la *Copaifera officinalis* (copaiba) presentó halos de inhibición frente a las cepas estudiadas. Nuestros resultados se asemejan con los hallados por otros autores, demostrando que la *Copaifera officinalis* (copaiba) mostró actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans*, desde la concentración más baja estudiada, por ello es una opción fitoterapéutica para ser utilizada contra bacterias cariogénicas en la prevención de caries; debido a sus principales propiedades terapéuticas como actividad antiinflamatoria, cuyos componentes hidrocarburos son los principales responsables, sesquiterpeno (β -bisaboleno y β -cariofileno), la acción curativa antiséptica, antitumoral, antibacteriano, germicida, expectorante, diuréticos y analgésicos; por lo tanto, a mayor concentración, mayor es el efecto que produce.²⁴

- Del mismo modo, se observó la actividad del extracto de *Piper aduncum* (matico) al 20% y 40% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, donde la concentración al 40% presentó mayor halo de inhibición que la concentración al 20%. Datos similares se hallaron en los estudios de Mendoza M.¹⁰ (Trujillo, 2019), Tapia V.¹¹ (Trujillo, 2019) y Tipula M.¹⁴ (Trujillo, 2016) quienes concluyeron que el *Piper aduncum* (matico)

presentaron halos de inhibición frente a la cepa estudiada. Nuestros resultados se asemejan con los presentados en los antecedentes analizados, demostrando que el extracto de *Piper aduncum* (matico) desde su concentración más baja estudiada presentaron efecto antibacteriano ante el *Streptococcus mutans*, debido a sus principios activos que actúan como antibacteriano frente a ciertas especies y patógenos clínicos, principalmente por la presencia de tres compuestos mayoritarios como la piperitona, el alcanfor y el viridiflorol; sin embargo, es necesario incidir que a mayor concentración mayor es el efecto producido.²⁷

- De la misma forma, se observó la actividad del extracto mixto de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, demostrando que el matico + copaiba al 20% lograron presentar mayor halo de inhibición. Mientras que, en los estudios de Tapia V.¹¹ (Trujillo, 2019) y de Tipula M.¹⁴ (Trujillo, 2016) también se registraron halos de inhibición de los extractos mixtos. Nuestros resultados se asemejan a los antecedentes analizados, donde del extracto mixto de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) en todas las concentraciones presentaron efecto sobre la cepa estudiada. Debido a que muestran propiedades analgésicas, antirreumáticas, diuréticas, carminativas, antiflogísticas y bactericidas; sin embargo, el mayor efecto presentó la concentración más baja, esto podría ser porque al combinar se puede bloquear alguna propiedad del *Piper aduncum* (matico) o de *Copaifera officinalis* (copaiba).
- De la misma manera, la investigación logró comparar el efecto

antibacteriano del extracto *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) frente con la Clorhexidina al 0,12% y etanol 70° frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, mediante la prueba post-hoc de Duncan se evidenció y corroboró que el grupo del control positivo Clorhexidina 0,12% presentó mayor efecto, seguido del extracto de *Copaifera officinalis* (copaiba) al 40%. Datos semejantes se hallaron en el estudio de Mendoza M.¹⁰ (Trujillo, 2019), Tapia V.¹¹ (Trujillo, 2019) y Godoy J.¹² (Chimbote, 2018) quienes concluyeron que el control positivo presentó mayor halo de inhibición frente a la cepa en estudio. Nuestro estudio se asemeja con los antecedentes analizados, donde se observó variabilidad en el tamaño de los halos de inhibición, además, el control positivo presentó halos de inhibición de mayor tamaño, lo que no necesariamente significa que presentó mejor actividad antibacteriana, teniendo en cuenta que los estudios han encontrado que el tamaño del halo de inhibición, no necesariamente refleja un mayor o menor nivel de actividad antibacteriano. Mientras que Moromi H, et al.⁷ (Lima, 2018), Tipula M.¹⁴ (Trujillo, 2016) y Ramos D, Casto A.¹⁵ (Lima, 2015) concluyeron que el extracto presentó mayor halo de inhibición comparado al control positivo. Nuestros resultados se diferencian con los antecedentes contrastados, esto podría estar influenciado por el tamaño de la molécula, tamaño del inóculo, tiempo de incubación, grado de contacto entre el material y el medio de cultivo, dificultad para reproducir el halo de inhibición y capacidad de difusión del material en el medio de cultivo.

VI. Conclusiones

1. Los extractos hidroetanólicos de hojas de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) tienen efecto antibacteriano frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019.
2. Los extractos hidroetanólicos de *Copaifera officinalis* en concentraciones del 20% y 40% tienen efecto antibacteriano frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
3. Los extractos hidroetanólicos de *Piper aduncum* (matico) en concentraciones del 20% y 40% tienen efecto antibacteriano frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
4. Los extractos hidroetanólicos mixtos de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) tienen efecto antibacteriano frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
5. Al comparar el efecto antibacteriano, los extractos hidroetanólico de Matico 20%, Copaiba + Matico 40%, Copaiba 20% y Copaiba + Matico 20% presentan similitud en su efecto. Los tratamientos Clorhexidina 0,12% y Copaiba 40% presenta similitud. Mientras que el Matico al 40%, no presenta similitud con algún otro tratamiento.

Aspectos complementarios

Recomendaciones

- Se sugiere considerar una línea de investigación donde se promueva el tratamiento de las patologías del sistema estomatognático basadas en plantas medicinales naturales sobre cepas de bacterias, con la finalidad de elaborar extractos, aceites y/o pomadas que sean asequibles económicamente y de fácil uso para la población de bajos recursos económicos.
- A futuros investigadores, ejecutar estudios donde se evalúe el efecto de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) en diversas concentraciones como tratamiento frente a patologías del sistema estomatognático.

Referencias bibliográficas:

1. Ojeda J, Ovieda E, Salas L. *Streptococcus mutans* y caries dental. CES. Odontol [Internet]. 2013 [Citado 25 Oct 2020]; 26 (1): 44-56. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/ceso/v26n1/v26n1a05.pdf>
2. Ramos D, Brañez K. *Streptococcus sanguis* y *Actinomyces viscosus* bacterias pioneras en la formación del biofilm dental. KIRU. [Internet]. 2016 [Citado 25 Oct 2020]; 13 (2): 179-184. Disponible en: <https://www.aulavirtualusmp.pe/ojs/index.php/Rev-Kiru0/article/view/1569>
3. Corrales I, Reyes J. Actividad etnofarmacológica y antimicrobiana de los componentes químicos de las plantas medicinales utilizadas en estomatología. Rev. Org. Est. Cienc. Méd. Cub. [Internet]. 2015 [Citado 25 Oct 2020]; 54 (257): 71-83. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=59202>
4. Mello da Silveira S, Cunha J, Scheuermann, G, Secchi, F, Vieira C. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from selected herbs cultivated in the South of Brazil against food spoilage and foodborne pathogens. Cienc. Rural [Internet]. 2012 [Citado 25 Oct 2020]; 42 (7):1300-6. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/cr/a/ks5SHYyX3LzXJFnmRLsqHHk>
5. Oliveira A, Ueda T, Prado B, Veiga J, Pinto A, Vataru C. Antimicrobial activity of Brazilian copaiba oils obtained from different species of the *Copaifera* genus. Mem Inst Oswaldo Cruz [Internet]. 2008 [Citado 25 Oct 2020]; 103 (3): 277. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762008005000015>

6. Pieri A, Martins C, Fiorini J, Scatamburlo M, Schneedorf J. Bacteriostatic effect of copaiba oil (*Copaifera officinalis*) against *Streptococcus mutans*. Braz. Mella. J. [Internet]. 2016 [Citado 25 Oct 2020]; 23 (1): 36-38. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-64402012000100006>
7. Moromi H, Ramos D, Villavicencio J, Martínez E, Mendoza A. Estudio in vitro del efecto antibacteriano de la oleorresina de *Copaifera reticulata* y el aceite esencial de *Origanum majoricum* frente a *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis* bacterias de importancia en patologías orales. Int. J. Odontostomat [Internet]. 2018 [Citado 25 Oct 2020]; 12 (4): 355-361. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-381X2018000400355>
8. Simoes C, De Oliveira N, Venancio G, Milério P, Valdir B. Antibacterial activity of copaiba oil gel on dental biofilm. Op. Dentist. Jour [Internet]. 2016 [Citado 25 Oct 2020]; 10 (1): 188-195. DOI: <https://doi.org/10.2174/1874210601610010188>
9. Froés M, Pessoa S, Oliveira A, Leomar Z, Loreto P, Dos Santos V. Antimicrobial activity of *Piper aduncum* leaf extracts against the dental plaque bacteria *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis*. Journal of Medicinal Plants Research [Internet]. 2016 [Citado 25 Oct 2020]; 10(23). DOI: <http://dx.doi.org/10.5897/JMPR2015.5956>
10. Mendoza M. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Piper Aduncum* (matico) sobre *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina, estudio invitro. [Tesis para obtener el Título profesional de Médico Cirujano].

- Trujillo, Perú: Universidad César Vallejo; 2019. Disponible en:
<https://hdl.handle.net/20.500.12692/29993>
11. Tapia V. Efecto antifúngico, in vitro, entre el extracto hidroalcohólico de hojas y tallo de *Piper aduncum* (matico) sobre *Candida albicans* ATCC 10231, Trujillo – 2018. [Tesis para optar el Título profesional de Cirujano dentista]. Trujillo, Perú: ULADECH; 2019. Disponible en:
<https://hdl.handle.net/20.500.13032/11353>
12. Godoy J. Actividad antimicrobiana In vitro del aceite esencial de *Copaifera officinalis* (copaiba) sobre *Streptococcus mutans*, Chimbote, 2017 [Tesis para optar el Título profesional de Cirujano dentista]. Chimbote, Perú: Universidad Católica los Ángeles de Chimbote; 2018. Disponible en:
<https://hdl.handle.net/20.500.13032/2532>
13. Zavaleta Y. Efecto antibacteriano comparado entre el aceite de *Copaifera officinalis* y oxacilina sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. [Tesis para optar el Título de Médico cirujano]. Trujillo, Perú: Universidad César Vallejo; 2018. Disponible en:
<http://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/25391/>
14. Tipula M. Efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de hojas del *Piper angustifolium* (matico) sobre cepas de *Candida albicans* comparada con la nistatina, estudio in vitro. [Tesis para optar el Título de Médico cirujano]. Trujillo, Perú: Universidad César Vallejo; 2016. Disponible en:
<http://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/596/>

15. Ramos D, Casto A. Actividad antibacteriana de *Copaifera reticulata* (copaiba) sobre *Phorphyromonas gingivalis* aisladas de pacientes con periodontitis. Odontol. Sanmarquina [Internet]. 2015 [Citado 25 Oct 2020]; 17(1): 7-11. Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/odont/article/view/9721>
16. Nigel P, Domenick Z, Phil M, Kim E, Jane W, Ramos F, Junji T, Svante G, Amid I. Dental caries. Nature Reviews Disease Primers. [Internet]. 2017 [Citado 25 Oct 2020]; 3: 17:30. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nrdp201730?proof=true>
17. Romo R, Herrera I, Bribiesca E, Rubio J, Hernández S. Caries dental y algunos factores sociales en escolares de Cd. Nezahualcóyotl. Bol Med. Hosp. Infant. Mex [Internet]. 2005 [Citado 25 Oct 2020]; 62 (2): 124-135. Disponible en: <http://scielo.unam.mx/pdf/bmim/v62n2/v62n2a6.pdf>
18. Inaba H, Amano A. Roles of Oral Bacteria in Cardiovascular Diseases-From Molecular Mechanisms to Clinical Cases: Implication of Periodontal Diseases in Development of Systemic Diseases. Journal of Pharmacological Sciences [Internet]. 2010 [Citado 25 Oct 2020]; 113 (2): 103–109. DOI: <https://doi.org/10.1254/jphs.09r23fm>
19. Tanzer J, Livingston J, Thompson A. The microbiology of primary dental caries in humans. J. Dent. Educ [Internet]. 2001 [Citado 25 Oct 2020]; 65 (10): 1028-1037. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11699974/>
20. Liébana J, Castillo A, Rodríguez A. Género *Streptococcus* y Bacteria relacionadas En Microbiología Oral. 2ª Ed, España, Madrid: McGraw-Hill-

- Interamericana; 2002. Disponible en: https://books.google.com.pe/books/about/Microbiolog%C3%ADa_oral.html?id=pB9qAAAAMAAJ&redir_esc=y
21. American Type Culture Collection. Virginia: ATCC [Internet]; 2009 [Citado 25 Oct 2020]. Disponible en: <https://www.atcc.org/products/all/25175.aspx>
 22. Menéndez C, Pavón V. *Plecthranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. Rev. Cubana. Plant. Med [Internet]. 1999 [Citado 25 Oct 2020]; 3 (3): 110-15. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v4n3/pla06399.pdf>
 23. Baslas R, Pradeep K. Phytochemical studies of plants of *Coleus* genera. Herba Hung [Internet]. 1981 [Citado 25 Oct 2020]; 20; 1-2. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scieloOrg/php/reflinks.php?refpid=S1028-4796199900030006000600001&lng=es&pid=S1028-47961999000300006](http://scielo.sld.cu/scieloOrg/php/reflinks.php?refpid=S1028-479619990003000600001&lng=es&pid=S1028-47961999000300006)
 24. Lidiam M, Sousa F, Souza P, Oliveira J, Da Silva A, Valdir J. Chemistry and Biological Activities of Terpenoids from Copaiba (*Copaifera spp.*) Oleoresins. Molecules [Internet]. 2012 [Citado 25 Oct 2020]; 17: 3866-3889. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules17043866>
 25. Abreu O, Rodríguez A, Morgado M, Cao L. Farmacognosia, farmacobotánica, farmacogeografía y farmacotimología del platanillo de Cuba (*Piper aduncum* subespecie *ossanum*). Revista Cubana de Plantas Medicinales [Internet]. 2012 [Citado 25 Oct 2020]; 17: 181-193. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v17n2/pla07212.pdf>
 26. Barraza F, Silva M, Vinet R, Laurido C, Barrera. Conocimiento etnobotánico tradicional y uso de plantas medicinales en un área rural de la región

- metropolitana de Chile. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas [Internet]. 2014 [Citado 25 Oct 2020]; 13 (4): 366-374. Disponible en: <http://hdl.handle.net/11447/41>
27. Maia J, Zohhbi M, Andrade E, Santoss A, da Silva M, Luz A, Bastos C. Constituents of the essential oil of *Piper aduncum* L. growing wild in the Amazon region. Flavour and Fragrance Journal [Internet]. 1998 [Citado 25 Oct 2020]; 13 (4): 3. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1026\(1998070\)13:4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1026(1998070)13:4)
28. Hernández R, Fernández C, Baptista M. Metodología de la investigación científica. 6ª ed. México: Mc Graw Hill [Internet]; 2014 [Citado 25 Oct 2020]. Disponible en: <https://n9.cl/65f>
29. Supo J. Niveles y tipos de investigación: Seminarios de investigación. Perú: Bioestadístico [Internet]; 2015 [Citado 25 Oct 2020]. Disponible en: <https://seminariosdeinvestigacion.com/>
30. Miranda M. Métodos de análisis de drogas y extractos. Cuba: Universidad Nacional Ciudad de la Habana [Internet]; 2002 [Citado 25 Oct 2020]. Disponible en: <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/rt/printerFriendly/476/202>
31. Clinical Laboratory Standard Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty third Information Supplement. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) [Internet]. 2013 [Citado 25 Oct 2020]; 33 (1). Disponible en: https://clsi.org/media/2663/m100ed29_sample.pdf

32. AL-Waili, A; Al-Ghamdi, M. Ansari, Al Salom. Synergistic Effects of Honey and Propolis toward Drug Multi-Resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans* Isolates in Single and Polymicrobial Cultures. Int J Med Sci [Internet]. 2012 [Citado 25 Oct 2020]; 20 (0). Disponible en: <https://www.medsci.org/v09p0793.htm>
33. Instituto de investigación. Código de ética para la investigación. 4^a ed. Chimbote: ULADECH Católica [Internet]; 2021 [Citado 25 Oct 2020]. Disponible en: <https://web2020.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2020/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v004.pdf>

ANEXOS



ANEXO 01:



INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE HOJAS DE *Copaifera officinalis* (COPAIBA) Y *Piper aduncum* (MATICO) FRENTE A CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175, DISTRITO DE TRUJILLO, PROVINCIA DE TRUJILLO, DEPARTAMENTO DE LA LIBERTAD, 2019

Autor: Graus Ríos, Reimiria Yudith.

Repeticiones	HALOS DE INHIBICIÓN (mm)							
	Extracto hidroetanólico de las hojas de copaiba y matico							
	Extracto Hidroetanólico de copaiba		Extracto Hidroetanólico de matico		Extracto Hidroetanólico mixto		Control negativo	Control Positivo
	Copaiba 20%	Copaiba 40%	Matico 20%	Matico 40%	Copaiba + Matico 20%	Copaiba + Matico 40%	Etanol 70°	Gluconato Clorhexidina 0.12%
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								

Fuente: Adaptado de: Godoy J. Actividad antimicrobiana In vitro del aceite esencial de *Copaifera officinalis* (copaiba) sobre *Streptococcus mutans*, Chimbote, 2017.¹²



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ANGELES
CHIMBOTE

ANEXO 02:



CARTA DE PRESENTACIÓN



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ANGELES
CHIMBOTE
FILIAL TRUJILLO

CARRERA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

Trujillo, 03 de noviembre del 2020

Mgtr. Lic. DAVID ZAVALETA VERDE
MICROBIÓLOGO DE LA ESCUELA DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

Presente

De mi especial consideración:

Es grato dirigirme a usted para saludarlo muy cordialmente en mi condición de Coordinador de Carrera de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica Los Angeles de Chimbote Filial Trujillo. Siendo el motivo de la presente manifestarle que, en el marco del cumplimiento curricular de la carrera profesional de odontología, en el curso de Tesis IV, nuestra alumna, GRAUS RÍOS, Reimiria Yudith; debe llevar a cabo el desarrollo de su proyecto de tesis titulado: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HIDROETANOLICO DE HOJAS DE *Copaifera officinalis* (copaiba) Y *Piper aduncum* (matico) FRENTE A CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175 TRUJILLO, 2019. Así mismo para realizar el presente trabajo se ha seleccionado a su digna institución motivo por el cual se solicita dar las facilidades a nuestra alumna y pueda ejecutar con toda normalidad su proyecto de tesis.

Es propicia la oportunidad, para reiterarle las muestras de mi especial consideración y estima personal.

Atentamente

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Escuela Profesional de Odontología

David Zavaleta Verde
MICROBIÓLOGO
C.B.P. 7941
Reimiria

Calle Aguamarina N°161 - 165 - Urb. San Inés - Trujillo - Perú
Teléfonos: (044) 600 569 / 600 568
Cel: 944 425 768
www.uladech.edu.pe



ANEXO 03:



CONSTANCIAS DE LABORATORIO

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.

Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae.
- Super Orden: Rosanae
- Orden: Fabales
- Familia: Fabaceae
- Género: *Copaifera*
- Especie: *C. officinalis* L.
- Nombre común: "copaiba"

Muestra alcanzada a este despacho por REIMIRIA YUDITH GRAUS RIOS identificada con DNI: 45506521, con domicilio legal en Los Rubies 295, Santa Inés-Trujillo. Estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote (ULADECH), cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Trabajo de Investigación para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE HOJAS DE *Copaifera officinalis* "copaiba" Y *Piper aduncum* "matico" FRENTE A CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175, TRUJILLO-2019.

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 04 de junio del 2019




Dr. JOSE MOSTACERO LEON
Director del Herbario HUT

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.

Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae.
- Super Orden: Magnolianae
- Orden: Piperales
- Familia: Piperaceae
- Género: *Piper*
- Especie: *P. aduncum* L.
- Nombre común: "matico"

Muestra alcanzada a este despacho por REIMIRIA YUDITH GRAUS RIOS identificada con DNI: 45506521, con domicilio legal en Los Rubies 295, Santa Inés-Trujillo. Estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote (ULADECH), cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Trabajo de Investigación para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE HOJAS DE *Copaifera officinalis* "copaiba" Y *Piper aduncum* "matico" FRENTE A CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175, TRUJILLO-2019.

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 04 de junio del 2019



[Handwritten Signature]
Dr. JOSE MOSTACERO LEON
Director del Herbario HUT



ANEXO 04:



CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

Se aplicó la prueba estadística ANOVA.

1. Planteamiento de hipótesis

- **H_i**: El extracto hidroetanólico de hojas de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) tiene efecto antibacteriano frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019.
- **H₀**: El extracto hidroetanólico de hojas de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) tiene efecto antibacteriano frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019.

2. Nivel de confianza

Nivel de confianza = **0,95 (95%)**

Nivel de significancia: **$p = 0,05$ (5%)**

La significancia es el valor estándar y en base a ello se determinó si se acepta o se rechaza la hipótesis de investigación.

3. Establecimiento de los criterios de decisión

La prueba estadística se realiza en base a la hipótesis nula.

- Si el valor de significancia **$p > 0,05$** se acepta H_0 se rechaza H_i .
- Si el valor de significancia **$p < 0,05$** se rechaza H_0 ; se acepta H_i .

4. Cálculos

El software SPSS, proyecta los siguientes datos:

Tabla 6.- ANOVA: Efecto del extracto hidroetanólico de hojas de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) tiene efecto antibacteriano frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019

Tratamientos	N	Diámetro (mm)		F	Sig. (p)*
		Media	Desviación típica		
Copaiba 20%	10	14.40	1.40	128.5	0.000
Copaiba 40%	10	18.97	2.30		
Matico 20%	10	13.52	1.82		
Matico 40%	10	17.02	1.71		
Copaiba + Matico 20%	10	14.40	1.69		
Copaiba + Matico 40%	10	14.10	1.34		
Control Negativo (Etanol 70°)	10	0	0		
Clorhexidina 0.12%	10	18.95	1.92		

Fuente: Análisis ANOVA- SPSS.

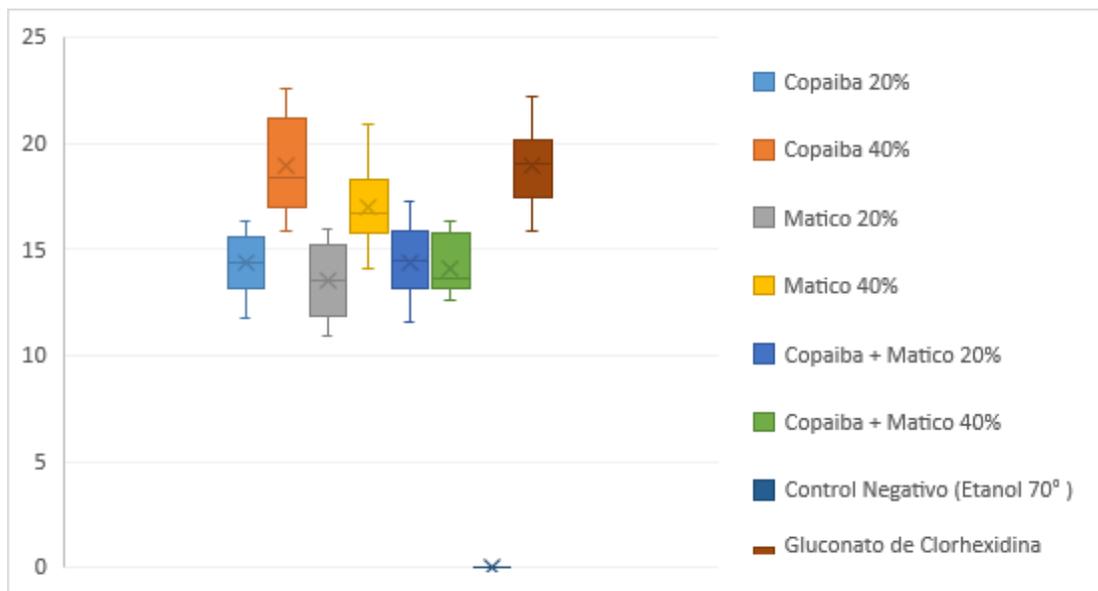
5. Decisión

La prueba ANOVA, arroja una significancia $p = 0,000 < 0,05$.

Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis de investigación.

- ✓ **H_i:** Los extractos hidroetanólicos de hojas de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) tienen efecto antibacteriano frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019.

Gráfico 6.- Efecto del extracto hidroetanólico de hojas de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) tiene efecto antibacteriano frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019



Fuente: Análisis SPSS por SPSS.

ANEXO 05:

PRUEBA DE NORMALIDAD



Los datos fueron sometieron al tratamiento estadístico mediante el software IBM SPSS Statistics v.25, para verificar si las muestras provienen de una población con distribución normal o no normal, mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov ($n > 50$) o Shapiro-Wilk ($n \leq 50$) e indicar inicialmente:

➤ **Criterio para determinar Normalidad:**

- ✓ $p \geq 0,05$ **Acepta H_0** = Los datos provienen de una Distribución Normal.
- ✓ $p < 0,05$ **Acepta H_i** = Los datos provienen de una Distribución No normal.

Tabla 7.- Prueba de normalidad para efecto antibacteriano del Extracto hidroetanólico de hojas de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, 2019

Repeticiones	Tratamientos - Halos de inhibición (mm)						Control Negativo (Etanol 70°)	Gluconato de Clorhexidina 0.12%
	Copaiba 20%	Copaiba 40%	Matico 20%	Matico 40%	Copaiba + Matico 20%	Copaiba + Matico 40%		
1	16.1	21.1	10.9	14.1	12.6	12.9	0	21.4
2	16.3	17.6	13.7	20.9	13.3	15.8	0	15.9
3	15.4	20.5	12.1	18.3	16	15.8	0	17.7
4	15	21.5	15	16.6	14.5	13.4	0	22.2
5	13.2	17	11	16	14.8	13.8	0	19.1
6	11.8	17.8	15.9	18.4	11.6	12.6	0	16.7
7	14.4	15.9	14.2	15.2	15.8	16.3	0	18.6
8	14.3	18.9	13.4	16.9	13.7	13.8	0	18.9
9	14.4	16.8	16	17.7	14.4	13.2	0	19.7
10	13.1	22.6	13	16.1	17.3	13.4	0	19.3
Promedio	14.4	18.97	13.52	17.02	14.4	14.1	0	18.95
p (sig.)	0.770	0.468	0.581	0.89	0.998	0.045	*	0.883
Prueba de Normalidad (Shapiro-Wilk)	Normalidad	Normalidad	Normalidad	Normalidad	Normalidad	No Normalidad		Normalidad

Fuente: Análisis de SPSS. (*) Control negativo (Etanol 70), es una constante y se ha desestimado

Al tener menos de 50 datos por cada grupo, es recomendable usar la prueba de normalidad del Shapiro-Wilk, para evaluar la distribución normal de los datos, de donde se puede observar que los grupos de datos tiene una significancia mayor a 0,05 ($p > 0,05$), es decir los datos presentan una distribución normal, a diferencia de un grupo que no presenta normalidad ($p < 0.05$).

Con lo cual podemos concluir, en general los datos (tratamiento) presentan una distribución normal.

ANEXO 06:

EVIDENCIAS

**PROCESAMIENTO DE LOS EXTRACTOS HIDROETANOLICOS DE
Copaifera officinalis (copaiba) Y *piper aduncum* (matico) REALIZADO EN LA
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UNT**

SELECCIÓN, LAVADO Y DESINFECCIÓN



Se lavaron las hojas de la Planta *Copaifera officinalis* (copaiba), y se desinfectaron con Hipoclorito de Sodio al 0,5%



Se lavaron las hojas de la planta *Piper aduncum* (matico) y se desinfectaron con Hipoclorito de Sodio al 0,5%

SECADO



Secado a Temperatura Ambiente por 24 horas y en estufa a 40°C de Hojas de la planta *Copaifera officinalis* (copaiba) pulverizacion, tamizaje y se pesó 250gr. De *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico).



Secado a Temperatura Ambiente por 24 horas y en estufa a 40°C de Hojas de la Planta *Copaifera officinalis* (copaiba), *Piper aduncum* (matico), Pulverizacion, Tamizaje y se pesó 250gr. De *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico).

PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS HIDROETANÓLICOS DE *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico)



Mezcla de Alcohol 96° con Agua Destilada (etanol al 70°) para *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) Tiempo de maceración por 7 y se agitara 15 minutos dos veces al día el frasco.





Se filtró el macerado de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico), al vacío con papel filtro Whatman N°1. Equipo de rotavapor que se utilizó para eliminar el solvente y obtener un residuo seco de los extractos hidroetanólicos de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico). Extractos Hidroetanólicos de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico).

Concentraciones:

Copaifera officinalis (copaiba): a las concentraciones de 20% y 40%

Piper aduncum (matico): a las concentraciones de 20% y 40% (100 mg/mL), 50% (500 mg/mL), 75% (750 mg/mL) disueltas en etanol de 70°.

Mixto: las concentraciones de 20% y 40% (100 mg/mL),

INOCULACIÓN DE LAS PLACAS

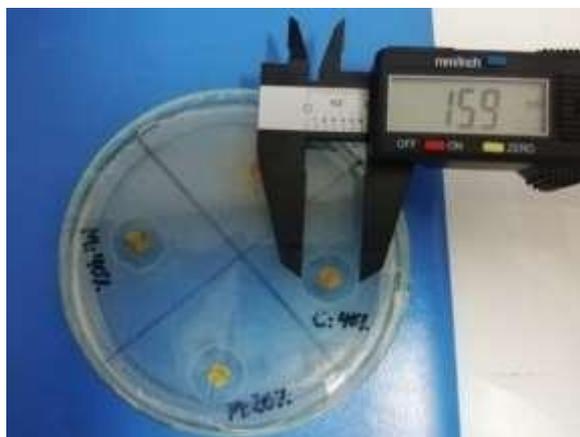
Hisopo estéril sumergido en la suspensión se distribuyó la suspensión bacteriana en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo de la placa.

PREPARACIÓN DE LOS DISCOS DE PAPEL FILTRO WHATMAN NÚMERO 6 ESTÉRILES

Preparación de los discos de papel filtro Whatman número 1 estériles, embebidos con 50 ul de cada una de las concentraciones de 20% ,40% de ambas concentraciones del Extracto Hidroetanólico de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico) y mixto al 20% y 40%.

LECTURA DE RESULTADOS

Se midieron los diámetros de los halos de Inhibición de *Copaifera officinalis* (copaiba) y *Piper aduncum* (matico).



Se midieron los halos de Inhibición del Control positivo (Clorhexidina al 0,12%)



Se midieron los halos de Inhibición del Control negativo (etanol al 70%).