

**UNIVERSIDAD PRIVADA DE TACNA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**



**“EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE
Equisetum arvense (COLA DE CABALLO) SOBRE LA *Porphyromona*
gingivalis ATCC 33277 - ESTUDIO IN VITRO. TACNA 2020”**

TESIS:

PRESENTADO POR:

Bach. Erika Blanca Choque Quispe

ASESOR:

Mg. Esp. Karina Portugal Motocanche

Para optar por el título profesional de:

Cirujano Dentista

TACNA – PERÚ

2020

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Karina Portugal Motocanche, que desde pre-grado supo ganarse la simpatía mía y de todos mis compañeros, una excelente maestra con vocación. Gracias por su asesoramiento, tiempo e infinita paciencia.

Al Dr. Marco Antonio Sánchez Tito, mi co-asesor, un excelente maestro y odontólogo, mis infinitas gracias por colaborar conmigo en la ejecución de mi proyecto.

A la Dra. Angela Aquize Díaz, porque de ella aprendí que el camino fácil no siempre es el correcto.

DEDICATORIA

A Dios porque está conmigo siempre, cuidándome y guiando mis pasos, decisiones y pensamientos.

A mis padres Elvira y Henry quienes, a pesar de tener dificultades en su salud me brindaron su apoyo, confiaron en mí y con mucho sacrificio lograron sacarme adelante. A ellos les dedico este logro pues es fruto de su gran esfuerzo y no me alcanzará la vida para retribuirles todo lo que me dieron.

A mis abuelos, María y Abdon, mis segundos padres, quienes me amaron y criaron como una hija más; ellos siempre estuvieron conmigo en la salud y en la enfermedad, en los mejores y sobre todo en los peores momentos. A ellos les debo mi vida entera, amor infinito y espero siempre enorgullecerlos.

A mi tía Julia, porque a pesar de las múltiples discusiones que hemos podido tener, siempre hemos permanecido unidas como familia, olvidando y perdonando palabras mal dichas. Pero sobre todo por su paciencia cuando fue mi paciente durante mis días en clínica.

A mis amigas Maryori, Iris y Ruddy, por su amistad, sus consejos, apoyo constante y motivación, las quiero infinitamente porque son personas con las que siempre puedo contar.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	02
DEDICATORIA	03
RESUMEN	06
ABSTRACT	07
INTRODUCCIÓN	08
CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	10
1.1. Fundamentación del Problema.....	10
1.2. Formulación del Problema.....	12
1.3. Objetivos de la Investigación.....	12
1.3.1. Objetivo General.....	12
1.3.2. Objetivos Específicos.....	12
1.4. Justificación.....	15
CAPÍTULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	15
2.1. Antecedentes de la investigación.....	15
2.2. Marco teórico.....	18
2.2.1. Equisetum arvense.....	18
• Características botánicas.....	18
• Distribución y ecología.....	19
2.2.1.1. Taxonomía.....	19
2.2.1.2. Composición.....	20
2.2.1.3. Actividades farmacológicas.....	21
• In vitro.....	22
• In vivo.....	22
• Reporte de casos.....	22
2.2.2. Enfermedad periodontal.....	23
• Etiopatogenia.....	23

2.2.2.1. Biofilm.....	25
• Colonización de microorganismos en el biofilm.....	26
2.2.2.2. Porphyromona gingivalis.....	27
• Taxonomía.....	27
• Morfología.....	27
• Estructura.....	28
• Factores de virulencia.....	28
• Transmisión.....	31
• Tratamiento mecánico y antimicrobiano.....	31
CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES.....	33
3.1. Hipótesis.....	33
3.2. Operacionalización de las variables.....	33
CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	35
4.1. Diseño de la investigación.....	35
4.2. Tipo de investigación.....	35
4.3. Ámbito de estudio.....	36
4.4. Población y muestra.....	36
4.4.1. Criterios de Inclusión.....	36
4.4.2. Criterios de Exclusión.....	36
4.5. Instrumentos de Recolección de datos.....	36
4.6. Materiales de Laboratorio.....	37
CAPÍTULO V: PROCEDIMIENTOS DE ANÁLISIS DE DATOS.....	39
CAPÍTULO VI: RESULTADOS.....	45
DISCUSIÓN.....	76
CONSLUSIONES.....	79
RECOMENDACIONES.....	81
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	82
ANEXOS.....	93

RESUMEN

Objetivo: Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *E. arvense* (Cola de caballo) sobre la *P. gingivalis* ATCC 33277. Estudio in vitro, Tacna 2020. **Material y método:** El diseño de investigación fue experimental, se utilizó extracto etanólico de *Equisetum arvense* (Cola de caballo) con cuatro volúmenes (15, 20, 25, y 30 μ L) y cuatro concentraciones cada una (25, 50, 75 y 100%). El extracto se elaboró mediante maceración de la cola de caballo en alcohol 70°/7d; por deshidratación a 50°C se obtuvo un extracto seco al cual se le añadió más alcohol 70° para conseguir las cuatro concentraciones. Los controles positivo y negativo fueron el Gluconato de Clorhexidina 0,12% y agua destilada, respectivamente. Las placas fueron incubadas de 48-72h a 37°C en una jarra de anaerobiosis. La medición de los halos de inhibición se realizó con un calibrador digital según la escala de Duraffourd. **Resultados:** En el efecto antibacteriano se observaron los halos de inhibición del extracto etanólico a partir de 15 μ L al 100% hasta 30 μ L al 100% resultando ser muy sensibles (++) . **Conclusiones:** El extracto etanólico de *E. Arvense* si presenta efecto antibacteriano sobre la *P. gingivalis*, observándose una relación directamente proporcional entre el volumen/concentración y el efecto antibacteriano.

Palabras clave: Efectividad antimicrobiana, *Equisetum arvense*, *Porphyromona gingivalis*.

ABSTRACT

Objective: To determine the antibacterial effect of the ethanolic extract of *E. arvense* (Horsetail) on *P. gingivalis* ATCC 33277. In vitro study, Tacna 2020. **Material and method:** The research design was experimental, ethanolic extract of *Equisetum arvense* (Horsetail) with four volumes (15, 20, 25, and 30 μ L) and four concentrations each (25, 50, 75 and 100%). The extract was made by macerating horsetail in 70 ° / 7d alcohol; by dehydration at 50 ° C a dry extract was obtained to which more alcohol 70 ° was added to achieve the four concentrations. The positive and negative controls were 0.12% Chlorhexidine Gluconate and distilled water, respectively. The plates were incubated for 48-72h at 37 ° C in an anaerobic jar. The measurement of the inhibition halos was carried out with a digital caliper according to the Duraffourd scale. **Results:** In the antibacterial effect, the inhibition halos of the ethanolic extract were observed from 15 μ L at 100% to 30 μ L at 100%, turning out to be very sensitive (++) . **Conclusions:** The ethanolic extract of *E. arvense* does present an antibacterial effect on *P. gingivalis*, observing a directly proportional relationship between the volume / concentration and the antibacterial effect.

Keywords: Antimicrobial effectiveness, *Equisetum arvense*, *Porphyromona gingivalis*.

INTRODUCCIÓN

Para países como México, Chile o Perú que poseen una cultura ancestral el uso terapéutico de la medicina tradicional es muy relevante incluso más que la medicina moderna, ya que teóricamente un sistema terapéutico se encarga de la resolución de enfermedades que afectan la población, y la medicina tradicional cumple con esta premisa (1) (2).

Al inicio de una enfermedad se presentan signos y síntomas (periodo pre-diagnóstico) es ahí donde las personas, sobre todo las de zona alto andina y selva, emplean plantas como medicina alternativa/complementaria, cuyas propiedades curativas se transmiten entre generaciones y según las necesidades, sin embargo, representa una desventaja y es que el diagnóstico médico definitivo se ve alterado cuando se pudo tomar otras medidas al inicio de la enfermedad (3).

Dentro del territorio peruano, habita una vasta cantidad de especies botánicas con o sin propiedades medicinales, no obstante, del 60% de la flora estudiada solo 1400 especies son de uso medicinal. Una de ellas es el ***Equisetum arvense*** o “Cola de caballo”, una planta que crece en el campo cerca de ríos y acequias tanto en la costa, sierra y selva. Múltiples estudios demuestran su efecto diurético, es decir, que actúa a nivel renal en la disminución del acúmulo de líquido aunque mencionan además, su poder como antiinflamatorio y coagulante de lesiones leves (4).

Como lesión leve podríamos considerar a la enfermedad periodontal cuando ésta se encuentra en una fase inicial o de gingivitis, donde el daño es menor en comparación con la periodontitis. Esta patología es la segunda con más prevalencia en el Perú, la primera es la caries, que se manifiesta con inflamación y sangrado gingival, incluso pérdida ósea cuando se torna crónica. La causa principal es el acúmulo de múltiples patógenos periodontales que forman el sarro o placa en la zona supra y subgingival. Uno de los principales periodontopatógenos es la ***Porphyromona gingivalis***, un cocobacilo gram negativo, identificado como un factor de

riesgo para pacientes gestantes y con infecciones cardio-pulmonares (5) (6).

Es por ello que el objetivo de este estudio fue determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Equisetum arvense* o “Cola de caballo” sobre la *Porphyromona gingivalis* en un estudio in vitro, continuando con la línea investigativa de otros estudios en relación a la salud periodontal de las personas.

Este proyecto se estructuró por capítulos:

El primer capítulo trata del problema de investigación, donde se fundamenta la problemática en función a las variables, así como la formulación del problema, objetivos: general y específicos, y la justificación. El segundo capítulo trata de la revisión bibliográfica, donde se explican los antecedentes y el marco teórico, en el que se realizan definiciones conceptuales del estudio.

El tercer capítulo trata de la hipótesis de investigación y sus variables dependientes e independientes.

El cuarto capítulo alude a la metodología, en el que se presenta el diseño y tipo de investigación, ámbito de estudio, población y muestra, al igual que el instrumento de recolección de datos.

En el quinto capítulo se explica el procedimiento y desarrollo que se empleó durante la ejecución de la investigación.

Por último, se expresa los resultados, conclusiones y recomendaciones. Así mismo, se referencia y se adjunta los anexos propios.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 Fundamentación del Problema

La enfermedad periodontal mundialmente es una de las patologías orales con mayor prevalencia, siendo considerada la sexta más frecuente porque afecta al 10,8% de la población global (743 millones de personas) en su tercera y cuarta década de vida (5) (6). El Seguro Integral de Salud (SIS) de nuestro país realizó un estudio entre sus asegurados (16 millones 762 mil personas, casi el 45% de la población total del país) basados en el universo de atenciones, para conocer que dolencias registran con mayor incidencia; y dentro del top 10 la enfermedad periodontal ocupa el quinto puesto con 599 211 atenciones a asegurados.(7) Otro estudio del 2015, menciona que esta enfermedad puede afectar a niños de 4 años hasta adolescentes de 16 años, sobre todo del sexo femenino (8) (9).

Por tanto, es considerada un problema de salud pública, cuyo impacto negativo conlleva a problemas de oclusión, masticación, estética, pérdida de piezas dentarias (10), y afecta la psicología de la persona disminuyendo su autoestima, debido a los signos y síntomas que se presentan como sangrado gingival, halitosis (11) y movilidad dentaria (12) (13) (14). Generalmente los más afectados son la población de bajos recursos, donde existe una higiene oral deficiente (15), dieta rica en carbohidratos, problemas hormonales, así como factores ambientales y adquiridos que incluyen al tabaco (16), alcohol, drogas, medicamentos y las enfermedades sistémicas como la diabetes mellitus (17) (18), enfermedades cardiovasculares (14), algunas respiratorias, artritis reumatoide, obesidad, y problemas durante el embarazo que pueden provocar un parto prematuro (19). Una de las principales bacterias causante de la enfermedad periodontal es la

Porphyromona gingivalis, que es un cocobacilo anaerobio Gram negativo, que se nutre de proteínas, carbohidratos, minerales y vitaminas, posibilitando el crecimiento de la microbiota dentro del surco gingival (20) (21) (22) (23) lo que se conoce como sarro o placa dental.

Por otro lado, existen múltiples estudios sobre el uso farmacológico de ciertas plantas durante el tratamiento de enfermedades, actuando como coadyuvante de otros fármacos (24) o de uso preventivo, la conocida medicina alternativa/complementaria. En el Perú existe una vasta cantidad de especies vegetales cuyas propiedades benefician la salud de la población, sin embargo, la información que se tiene hoy en día data de cientos de años atrás, que se fue transmitiendo entre generaciones, por tanto, requieren de más estudios que prueben o amplíen su actividad antibacteriana.

Cáceres K. comparó el efecto antibacteriano del extracto de ***Equisetum arvense*** en diferentes concentraciones frente a cepas de *Streptococcus Mutans* (caries), donde halló que las concentraciones mayores al 50% inhibían el crecimiento de la bacteria. Normalmente esta planta se emplea para tratar problemas de retención de líquido actuando a nivel renal, empero las probabilidades de que también posea efecto en virus, hongos o bacterias orales aún son existentes. El *Equisetum arvense* es una planta que crece por los alrededores de ríos o acequias, donde el suelo es relativamente húmedo, y donde el clima puede ser variado. Es por ese motivo que es común hallar esta planta tanto en la costa, sierra y selva, cuyas características difieren del otro según la altura y lugar de crecimiento (25).

Finalmente, esta investigación estará destinada a conocer el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Equisetum arvense* sobre la *Porphyromona gingivalis*, para obtener un medicamento natural y económico.

1.2 Formulación del Problema

¿Existe efecto antibacteriano del extracto etanólico de *E. arvense* (Cola de caballo) sobre la *P. gingivalis* ATCC 33277 en un estudio in vitro?

1.3 Objetivos de la Investigación

1.3.1 Objetivo General

Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *E. arvense* (Cola de caballo) sobre la *P. gingivalis* ATCC 33277. Estudio in vitro, Tacna 2020.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Determinar el efecto antibacteriano de **15 µL** de extracto etanólico (*E. arvense*) al 25%, 50%, 75% y 100% sobre la *P. gingivalis* ATCC 33277. Estudio in vitro, Tacna 2020.
- Determinar el efecto antibacteriano de **20 µL** de extracto etanólico (*E. arvense*) al 25%, 50%, 75% y 100% sobre la *P. gingivalis* ATCC 33277. Estudio in vitro, Tacna 2020.
- Determinar el efecto antibacteriano de **25 µL** de extracto etanólico (*E. arvense*) al 25%, 50%, 75% y 100% sobre la *P. gingivalis* ATCC 33277. Estudio in vitro, Tacna 2020.
- Determinar el efecto antibacteriano de **30 µL** de extracto etanólico (*E. arvense*) al 25%, 50%, 75% y 100% sobre la *P. gingivalis* ATCC 33277. Estudio in vitro, Tacna 2020.
- Comparar el efecto antibacteriano de los extractos etanólicos (*E. arvense*) y el Gluconato de Clorhexidina 0,12% sobre la *P. gingivalis* ATCC 33277. Estudio in vitro, Tacna 2020.

1.4 Justificación

Es viable realizar esta investigación, ya que actualmente contamos con una biodiversidad de plantas naturales que de la cuales se obtienen productos de gran interés por sus propiedades medicinales y de fácil alcance. El presente proyecto pretende conocer al ***Equisetum arvense*** (Cola de caballo) a nivel teórico y su actividad como antibacteriano, colaborando en el ámbito clínico en un estudio in vitro.

La investigación es muy interesante pues en la Odontología General existirá una opción terapéutica más que será diferente a las convencionales. Gracias a los estudios en relación a las propiedades químicas y farmacológicas de esta planta medicinal, se han desarrollado indicaciones para el uso correcto en beneficio de la salud bucal, logrando su uso adecuado con sustento científico.

Con esta investigación se pretende conocer si el ***Equisetum arvense*** (Cola de caballo) posee un efecto antibacteriano frente a la ***Porphyromona gingivalis***, ya que existen escasas investigaciones acerca del efecto de esta planta medicinal sobre enfermedades bucales. Entonces con esta investigación se pretende que el ***Equisetum arvense*** (Cola de caballo) de resultados positivos contra la ***Porphyromona gingivalis***, es decir, que se pueda indicar inhibición de la misma mediante un estudio in vitro, con el propósito de que en un futuro pueda ser empleada como un producto odontológico hecho a base de una planta medicinal que es un recurso natural, alternativo, de bajo costo, asequible a personas de bajos recursos que no tienen acceso rápido a una salud clínica integral, y de esa manera contribuir a mejorar la calidad de vida.

Los resultados de esta investigación permitirán resolver si el extracto etanólico tiene efecto antibacteriano, teniendo en ello la posibilidad de

estimular otros estudios y alternativas naturales que contrarresten a este y otros patógenos.

CAPÍTULO II

ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

Medina-Bernal, M. Determinación del efecto antimicrobiano in vitro del extracto de equisetum giganteum L. (cola de caballo) sobre el crecimiento de staphylococcus aureus, escherichia coli y candida albicans. Arequipa. 2015 (26). La finalidad de este estudio fue determinar el efecto antimicrobiano in vitro de cola de caballo sobre tres tipos de bacterias: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*. Mediante percolación se realizó la extracción de equisetum empleando solventes: hexano, acetato de etilo y un solvente hidroalcohólico. Por cromatografía de capa fina (CCF) se identificó los elementos secundarios. De cada especie bacteriana químicamente identificado, se consideró 12 cepas. Para conocer la concentración mínima inhibitoria (CMI) se empleó el método de dilución en tubo; mientras que para la concentración mínima bactericida (CMB) se usó el método de siembra en agar. En los resultados, se observó 46,8% de rendimiento al obtener el extracto hidroalcohólico, donde se reconoció: alcaloides, terpenos, flavonoides y taninos como componentes secundarios. La CMI obtenida en el *Staphylococcus aureus*, fue 3,5 mg/mL, en la *Escherichia coli* fue 15 mg/mL y para *Candida albicans* fue 3 mg/mL. Mientras que la CMB lograda en el *Staphylococcus aureus* fue 4,5 mg/mL, en la *Escherichia coli* fue 25 mg/mL y para *Candida albicans* fue 4 mg/mL. En conclusión, el extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum L.* mostró un mayor efecto antimicrobiano sobre el *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*, mientras que en la *Escherichia coli* mostró poca sensibilidad.

Calsin-Huayta, Y. Actividad antimicrobiana “In vitro” del aceite esencial y extracto etanólico de Equisetum arvense “cola de caballo” frente a Escherichia coli y Candida albicans uropatógenas. Puno. 2017 (27). La finalidad de este trabajo fue determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial y extracto etanólico de “cola de caballo” frente a la *Escherichia coli* y *Candida albicans*, Y después contrastar si es que la *Escherichia coli* y *Candida albicans* poseen susceptibilidad antimicrobiana frente al aceite esencial y extracto etanólico de “cola de caballo” comparados con los fármacos: gentamicina y fluconazol. Por arrastre a vapor de agua se extrajo el aceite esencial mientras que para obtener el extracto etanólico se hizo una maceración en frío. Con el método de dilución en placa con concentraciones de 0.1%, 0.2%, 0.5%, 1%, 2.5% y 5% se estableció la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial y extracto etanólico. Por otro lado, se empleó el método de difusión en placa (Kirby-Bahuer) con dosis de 1 µl, 5 µl, 10 µl, 25 µl, 35 µl y 50 µl de aceite esencial y extracto etanólico para determinar la susceptibilidad antimicrobiana, teniendo como controles positivos los antibióticos gentamicina y fluconazol. En conclusión, la CMI del aceite esencial de *Equisetum arvense*, frente a *Escherichia coli* in vitro fue 1.0% y 2.5% para el extracto etanólico, mientras que para *Candida albicans* las concentraciones de aceite esencial y extracto etanólico no alcanzaron para determinar la CMI. En cambio la susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli*, el porcentaje de inhibición del aceite esencial y extracto etanólico a dosis mayores (35 y 50 µl) fueron mayores al control (Gentamicina 10 µg) con 57% y 27% por encima de dicho control, estos datos fueron analizados estadísticamente mediante pruebas de análisis de varianza y pruebas de rango múltiple de Tukey, donde presentaron una relevante diferencia estadística ($P < 0.05$), mientras tanto la cepa de *Candida albicans* fue la más resistente a las dosis aplicadas.

Caceres-Lupaca, K. Efecto antibacteriano in vitro del extracto de Equisetum arvense (cola de caballo) sobre el Streptococcus mutans, Puno. 2018 (28). Se tomó 6 cultivos por cada placa Petri, con 4 diferentes concentraciones haciendo un total de 24 mediciones. Estas concentraciones fueron de 10%, 25%, 50% y 100% del extracto de *Equisetum arvense*. Con el método “Kyrby Bauer” se realizó la prueba de difusión en pocillos con disco de papel filtro sugerido por el Instituto Nacional de Salud, para poder analizar los datos se utilizó la prueba estadística t, diagrama de barras, la prueba de significancia de Tukey y el análisis del efecto antibacteriano cualitativa según la escala de Duraffourd. En conclusión, el extracto de “cola de caballo” de 10% y 25% de concentración no tuvo actividad antibacteriana sobre el *Streptococcus mutans* y el promedio de halo inhibitorio era 6.87mm. y 7.70mm respectivamente. Pero si hubo efecto antibacteriano sobre el *Streptococcus mutans* con concentraciones de 50%, y 100% donde el promedio de inhibición fue 9.93mm y 12.23mm. respectivamente.

2.2. Marco Teórico

2.2.1. Equisetum Arvense

- Características botánicas

Esta planta es palustre y rizomatosa. Con un *tallo* que mide hasta 5 m. de altura, erecto verde oscuro, cilíndrico, fistuloso, nudoso, áspero, con estrías longitudinales en alto relieve debido a la presencia de sílice. Sus *ramas* son verticiladas y articuladas en segmentos que brotan por debajo de la vaina dejando visible en parte la ocreola, de epidermis rugosa. Las *hojas tienen un tamaño* pequeño y son escuamiformes, agrupadas en verticilos sobre los nudos, soldadas por sus bases, se encuentran formando un collar o vaina que rodea completamente al tallo, inmediatamente por encima de los nudos; cada hoja tiene un único nervio que forma una costilla central y presenta estomas en su epidermis interior. Cuando son jóvenes las hojas son de color verde, pero con la edad se decoloran y blanquean, así que el tallo se encarga de la fotosíntesis. Sus *órganos reproductores* forman una espiga fructífera, estrobiliforme, cilíndrica, apiculada, sésil en el extremo de las ramas, con un involucro de escamas en su base, de 5 - 20 mm de largo por 3 - 6 mm de diámetro (29).

Un estudio de la India identificó 2 tipos diferentes de ***E. arvense***; los fértiles y los estériles, el primero no presenta ramas, aparece a principios de primavera, son gruesos, de color marrón a blanquecino, y mide de 10 - 30 cm de alto. Y el segundo, tiene muchas espirales de ramas delgadas, aparecen como tallos fértiles que se marchitan luego, y mide de 10 - 50 cm de alto; delgado, verde, de 10 a 12 crestas, minuciosamente endurecido. Por lo general, los estériles son doblemente más altos que los fértiles (30).

- **Distribución y ecología**

Ampliamente distribuido en las zonas templadas del hemisferio norte, Canadá, Estados Unidos, Europa y Asia al sur hasta Turquía, Irán, el Himalaya y en China, Corea y Japón (30).

Otros estudios realizados mencionan que es propia de América, y que se distribuye mundialmente a países con climas templados y cálidos. En el Perú, “la cola de caballo” crece en cualquier región, independientemente del clima y la altura que puede ser desde los 20 a los 4500 m.s.n.m. Preferentemente está en lugares húmedos (charcos, pantanos, riberas de los ríos, quebradas, borde de acequias, etc.), y también invade campos cultivados relativamente húmedos o fangosos como los arrozales (29) (31).

2.2.1.1. Taxonomía (30)

Resultados obtenidos en el laboratorio de Taxonomía de la UNJBG - Tacna:

- Reino : Plantae
- División : Sphenophyta
- Clase : Equisetopsida
- Orden : Equisetales
- Familia : Equisetaceae
- Género : Equisetum
- Especie : Equisetum arvense L.
- Nombre común : Cola de caballo

2.2.1.2. Composición

El *E. arvense* estéril usado en esta investigación, según estudios contiene:

- *Minerales*: Ácido silícico y silicatos (5 - 8%), potasio (1.8%), calcio (1.3%), aluminio, azufre, magnesio, manganeso y otros minerales como fósforo, sodio y zinc (32) (30) (25) (33).
- *Ácidos fenólicos*: Ácido di-E-cafeoil-meso-tartárico (34) aislado del extracto metanólico de los brotes estériles de *E. arvense*, es el principal derivado del ácido hidroxicinámico. La concentración de ácido di-E-cafeoil-meso-tartárico se forma en un periodo de dos años de crecimiento (35), mono-O-cafeoil-meso-tartrato, ésteres metílicos de los ácidos protocatechuico y cafeico (36). Los brotes estériles contienen ácido 5-cafeico-hikimico (37).
- *Flavonoides*: 0.3 - 0.9% del total de flavonoides. Varios flavonoides presentes son kaempferol 3-O-soforósido-7-O-glucósido, kaempferol 3-O-(6"-O-malonil-glucósido)-7-O-glucoside (38) (39). kaempferol 3-O-soforósido (36), quercetin3-O-glucósido, apigenin, apigenina 5-O-glucósido (40), luteolina, luteolina 5-O-glucósido (41), genkwanin 5-O-glucósido, isoquercitrina (42) (43) (44).
- *Petrosinas fenólicas*: Onitina y oniti-9-O-glucósido (39) (30) (45).
- *Glucósidos fenólicos*: Los brotes fértiles contienen equisetumósido A, equisetumósido B y equisetumósido C.
- *Glucósidos de estilipirona*: Los rizomas contienen 3'-desoxiequisetumpirona (3,4-hidroxi-6-(4'-hidroxi-D-estiril)-2-pirona-3-O-β-D-glucopiranósido) (46) y 4'-O-metilequisetumpirona (3,4-hidroxi-6-(3'-hidroxi-4'-metoxi-

Estiril)-2-pirona-3-O-β-D-glucopiranosido) (47). Los tallos vegetativos contienen equisetumpirona (48) (30) (45).

- *Triterpenoides*: los tallos estériles contienen isobaueranol, taraxerol, germanicol, ácido ursólico, ácido oleanólico y ácido betulínico (49) (30) (45).
- *Alcaloides*: Pequeñas cantidades de nicotina, 3-metoxipiridina, palustrina y palustrinina (30) (45) (25) (50)
- *Saponinas*: Equisetonina (51) (30).
- *Fitosteroles*: colesterol, epicolestanol, colesterol 24-metilencolesterol (49), isofucosterol (5,9%), campesterol (32,9%) y β-sitosterol (60%) (40) (52) (30) (45).
- *Ácidos dicarboxílicos de cadena larga y ramificada*: Las esporas contienen compuestos C₂₂-C₃₀ (53).
- *Otros componentes*: Esta planta contiene proteínas (54) y enzimas verdaderas (principalmente tiaminasa) (30).

2.2.1.3. Actividades farmacológicas

Carneiro et al. en una revisión sistemática, compilaron y analizaron 81 artículos donde se tocaban varios aspectos del ***E. arvense*** que respaldan su uso médico en la clínica diaria, para lo cual se hizo una búsqueda bibliográfica en 6 bases de datos: PubMed, LILACS, SciELO, Virtual Health Library (BVS, por sus iniciales en portugués), Cochrane, Scopus y en documentos de ANVISA y EMA. Los archivos a considerar fueron publicados del 2013 al 2017. Dentro de los temas principales que se mencionan está la actividad biológica *in vitro* e *in vivo*, ensayos clínicos de ***E. arvense*** solo o combinado con otras plantas, posibles interacciones farmacológicas y estudios de revisión:

In vitro

Los estudios *in vitro* se realizan en células o partes de la célula, no implican el uso de organismos vivos (animales/humanos), son simples y baratos. En tal sentido, los efectos que más destacaron fueron: antioxidantes (50) (55) (56) (57) (61) (59), antimicrobianos (60) (61) (62) (63) (64), inhibidores de agregación plaquetaria (65) (66), citotóxicos y anticancerígenos (50) (67) (66) (68), relajantes del músculo liso vascular e íleon (69), hepatoprotectores (39), remineralizantes (70) (71) (72) (62), antiinflamatorios (73) (74) y anti lesiones (74).

In vivo

Cuando se obtienen resultados positivos de los estudios *in vitro*, los científicos verifican esta información con experimentos *in vivo* en organismos modelo, como los ratones, por ejemplo. Es así que se demostró que el ***E. arvense*** tiene efecto como ansiolítico (75) (76), antidiabético (77), analgésico y antiinflamatorio (40) (30), contra la hiperplasia prostática benigna (78) (79), cicatrizante (80) (81) (82), remineralizante (83), antilitiático (84) (85), miorrelejante de vejiga (86) y diurético (87) (88) (89).

Reporte de casos

Un estudio reciente describió una posible interacción entre ***E. arvense*** y la terapia antirretroviral en dos pacientes con VIH. Esta interacción podría haber desencadenado un avance virológico en los pacientes, que mantuvieron un mismo régimen medicamentoso durante muchos años que incluía lamivudina, zidovudina, efavirenz, emtricitabina y tenofovir. Debido a la escasez de datos sobre las propiedades farmacológicas de

Equisetum arvense con respecto a las posibles interacciones entre medicamentos y hierbas, los autores concluyeron que estas interacciones pueden ocurrir cuando estos agentes se toman simultáneamente y, por lo tanto, aconsejan a los médicos que eviten esta combinación hasta que se disponga de más datos (90).

2.2.2. Enfermedad Periodontal

De acuerdo a la nueva clasificación de “Enfermedades y Condiciones Periodontales y Periimplantarias” (2018) las enfermedades periodontales se dividen en enfermedades/condiciones gingivales y en periodontitis. Esta clasificación se caracteriza por presentar estadios (I, II, III, IV) basados en la severidad y complejidad de manejo, y grados (A, B, C) basados en la evidencia o riesgo de progresión rápida y posible respuesta de tratamiento (91).

La definición de enfermedad periodontal todavía persiste en el tiempo, porque es crónica (progresión lenta) y siempre las estructuras afectadas serán las de sostén, y la responsable es un biofilm microbiano que se localiza a nivel cervical de los dientes, pero también existen factores responsables. Comúnmente, existe un cuadro de gingivitis previo, sin embargo, no todos los casos de gingivitis evolucionan en periodontitis.

Etiopatogenia

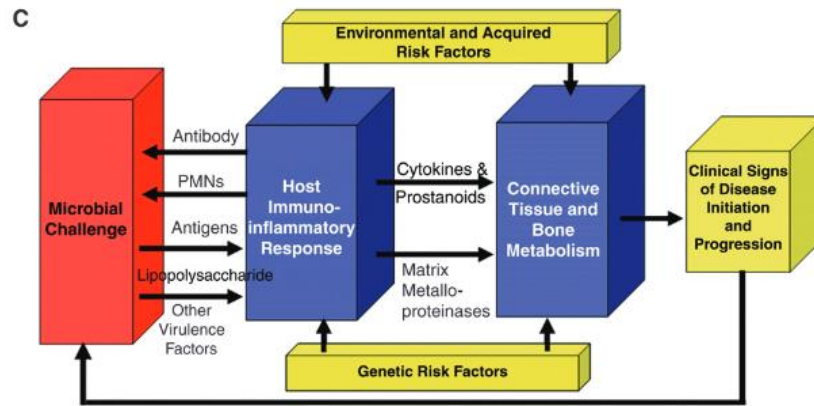
En la zona subgingival se encuentran unas bacterias específicas en forma de biofilm, los cuales participan en el inicio y desarrollo de la enfermedad periodontal, y es el primer factor etiológico que provoca la aparición de bolsas periodontales, destrucción del tejido conectivo y reabsorción del hueso alveolar gracias a un proceso patogénico e inmunológico (92). No obstante, el factor genético,

ambiental, modificadores y los adquiridos también influyen en el progreso de la enfermedad, así como el sistema inmunológico del huésped y el proceso inflamatorio que se manifiesta (19).

Dentro de la gama de especies bacterianas responsables de la enfermedad periodontal, existen ciertas bacterias o asociaciones bacterianas claves las cuales cumplen un papel importante en el inicio y progresión de la pérdida de inserción periodontal (93) (94) dentro de estas especies se encuentra *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y *Porphyromonas gingivalis*. En particular, estas dos poseen poderosos factores de virulencia, inducen una respuesta inmunitaria inflamatoria en la persona, pueden existir infecciones extraorales por translocación y llega a transmitirse entre los miembros de una misma familia o cercanos (95) (96).

Gracias a los productos bacterianos (antígenos, lipopolisacáridos, y otros factores de virulencia) llega la aparición de anticuerpos y células polimorfonucleares (PMN) en un intento de controlar dicha actividad en el surco gingival. Esta respuesta inmuno-inflamatoria del huésped activa a las citoquinas, prostanoïdes y metaloproteinasas, estimulando la destrucción del tejido conectivo y hueso alveolar que clínicamente es observable. Sin embargo, los factores ambientales, adquiridos, genética y modificadores de la respuesta inflamatoria en el metabolismo óseo y del tejido conectivo resultante también contribuyen al avance de un cuadro de periodontitis. Por lo tanto, las manifestaciones clínicas, la progresión de la enfermedad y respuesta al tratamiento, en conjunto expresarán los mediadores biológicos que pueden ser protectores y a la vez destructivos, pero depende de la genética del paciente y los factores que adquiere. Dicho de otra manera, factores modificadores como la exposición al humo del cigarrillo y/o los factores de riesgo genéticos inherentes pueden modificar la

respuesta inmuno-inflamatoria provocando una destrucción periodontal más severa (19) de hasta 30 al 60 % (97).



Las células del sistema inmune producen grandes cantidades de mediadores inflamatorios como son las citoquinas (interleucinas 1, 6, 8 y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α)), prostaglandinas (PG-E₂) y metaloproteinasas (MMP) responsables de la destrucción del tejido blando y duro. Esta interacción entre la infección producida por las bacterias y el sistema inmune está influenciada por factores genéticos y adquiridos, lo que confiere el carácter multifactorial a este grupo de enfermedades.

2.2.2.1. Biofilm

Es un medio biológico en el cual se desarrollan microcolonias de distintas especies, dentro de una matriz extracelular compuesta principalmente por exopolisacaridos producto de las propias bacterias y adherida a las superficies dentales (98).

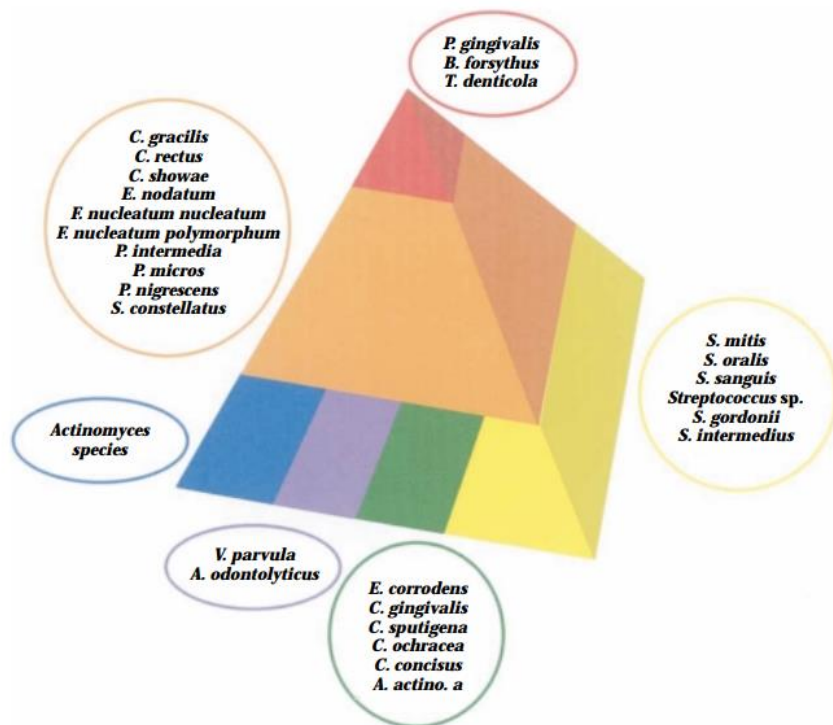
En principio el crecimiento bacteriano se produce en un medio liquido (saliva) por lo cual se denomina “plancton”, más adelante con un medio adecuado, las bacterias se adhieren a una superficie dura (diente, restauraciones, implantes, prótesis, etc.) donde se forma el “biofilm dental”. Y su supervivencia dependerá de los propios microorganismos que se desprenden de un biofilm

para formar otra colonia en un sitio distinto, independientemente si se trata de la misma persona u otra (99).

Colonización de microorganismos en el biofilm

Socransky et al. utilizando muestras gingivales y subgingivales, identificó 40 especies bacterianas de la cavidad oral y las clasificó en complejos microbianos con diferentes colores (100).

Como consecuencia de la conformación de grupos bacterianos dentro de cada biofilm, se produce el desarrollo de la placa dental. Los primeros grupos en colonizar las superficies dentales se dividen en 4 complejos. El primer complejo (**azul**) es donde se encuentra el *Actinomyces*, el segundo complejo (**amarillo**) conformado por las bacterias del género *Streptococcus*, un tercer complejo (**verde**) que consta de las especies de *Capnocytophaga*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotipo a, *Eikenella corrodens*, *Campylobacter concisus* y un cuarto complejo (**púrpura**) que incluye al *Veillonella parvula* y *Actinomyces odontolyticus*. Comúnmente, el incremento constante de estos microorganismos antecede a los complejos (**naranja**) y (**rojo**), en éste último se encuentran las bacterias anaerobias predominantes en la enfermedad periodontal: *Porphyromona gingivalis*, *Treponema denticola* y *Tannerella forsythia* (20).



2.2.2.2. Porphyromona gingivalis

Es una de las bacterias responsable de la enfermedad periodontal, habitan en la zona subgingival y su colonización ocasiona un daño en los tejidos de soporte gracias a que se producen diversos factores de virulencia, y a una disbiosis entre el sistema inmune y la reacción inflamatoria en el huésped (101). En un medio de cultivo forma colonias de 1 – 2mm de diámetro y adoptan un tono oscuro (102).

Taxonomía

Se encuentra en el género *Bacteroides*, anaerobio, gram negativo y sin esporas (103) (104).

Morfología

Es un bacilo corto o cocobacilo, donde sus medidas son de 0.5 - 0.8µm x 1 - 3.5µm (105) (104).

Estructura

Posee una pared celular con dos membranas, donde la externa tiene endotoxinas (lipopolisacáridos) incorporadas, tiene capsula, no esporulado, sin flagelos, pero rico en fimbrias.

Superficialmente posee varias vesículas quienes en su interior contienen enzimas, importante para su acción virulenta, además, existen otro tipo de enzimas que pueden disminuir los compuestos proteicos (101) (106) (96) (104).

Factores de virulencia

- Cápsula

Conformada estrictamente por polisacáridos, cuyo papel es la de un gen codificante de epimerasa (eps C) indispensable para su producción, y de la cual existen 6 serotipos capsulares (K1 – K6). Esta cápsula cumple un papel de gran trascendencia durante el proceso de evasión perteneciente al sistema inmunológico, evitando la fagocitosis, opsonización y el accionar del complemento (107) (108) (109).

- Endotoxina (LipoPoliSacáridos)

Se encuentra incrustada en la membrana externa de la porphyromona, y está compuesta en parte por el lípido A, que se encarga de la interrupción del homeostasis inmunológica del huésped, provoca inflamación de las encías, se la asocia con la destrucción del tejido conectivo conjuntamente con la reabsorción del hueso alveolar gracias a la activación de osteoclastos y causa la liberación de prostaglandinas E2 (PG-E2), así como un incremento de interleucina 18 (IL18) e interleucina 1B (IL1B) (107) (108) (109).

- Vesículas de membrana externa

Éstas vesículas presentan un diseño que tiene forma de sacos cerrados ubicados a un nivel más externo del germen, dentro de su estructura presentan múltiples enzimas como: fosfolípasa C, proteasas, fosfatasa alcalina, hemolisinas, lipopolisacaridos; quienes al ser liberadas producen deterioro de las células periodontales y los neutrófilos (107) (108) (109).

- Hemagglutininas

Son proteínas codificadas por el gen *hag* y estas pueden ser 5 (A, B, C, D, y E), éstas promueven la colonización mediante la unión bacteriana a receptores oligosacaridos en células humanas.(107) (108) (109)

- Fimbrias

Las medidas que presentan las fimbrias son de 0.3 a 3.0 um de largo y 5 nm de ancho, constituidos de monómeros de fimbrilina, codificados por el gen *fimA*, y se los puede clasificar en 6 variantes, del tipo I al V y el Ib. Son capaces de adherirse a diferentes sustratos, moléculas, y células, tales como epitelial, fibrinógeno, fibronectina y lactoferrina.

Al mismo tiempo presenta propiedades quimiotácticas y de inducción de citoquinas. Se ha podido detectar a las *P. gingivalis* con fimbrias *fimA* tipo II y IV en la progresión de las enfermedades periodontales y a las de tipo I y V en adultos periodontalmente sanos.(107) (108) (109).

- Proteínasas cisteinproteasas

Son los responsables del crecimiento y desarrollo bacteriano, y a la vez destruyen en el huésped sus moléculas de colágeno de diferentes tipos. Son el producto de tres genes: *rgpA*, *rgpB*, *Kgp*

(110) y también son las llamadas “gingipainas”. La actividad proteolítica que genera en la *Porphyromona gingivalis* es del 85% y otro 100% se produce por su actividad de tipo tripsina. En el huésped, provoca la destrucción de fibronectina, fibrinógeno y de las uniones de las células epiteliales, activación el proceso de coagulación y sistema de calicreína – quinina. Intervienen en sistema inmunológico del huésped donde se degrada la IL8, un importante quimiotáctico y C₃ cuya activación produce C_{3a} y C_{3b}, donde este último tiene una potente acción opsonizante (101) (106) (110) (96).

- Proteinasas no cisteinoproteasas

Dentro de este grupo se encuentra la colagenasa, proteasa (111), hemaglutinina (101), una enzima tipo convertora de endotelina, una dipeptidilpeptidasa (112) y la periodontaina, esta última, elimina proteínas desnaturalizadas y los polipéptidos (110).

- Inductor de metaloproteinasas de la matriz

La ***Porphyromona gingivalis*** induce a la producción metaloproteinasas mediante los fibroblastos, leucocitos y macrófagos (104). Las metaloproteinasas degradan la laminina, fibronectina y colágeno que se encuentran en la matriz extracelular (101) (110). Por si fuera poco, la ***Porphyromona gingivalis*** inactiva los inhibidores tisulares de metaloproteinasas, específicamente el tipo 1, que está relacionada con la destrucción del colágeno tipo I y fibronectina (110).

Variabilidad

El lipopolisacárido y la cápsula bacteriana son importantes en la ***Porphyromona gingivalis*** dado que inducen variabilidad en la respuesta inmune desplegada por el hospedero. En efecto, sobre la base de la inmunogenicidad de los polisacáridos que conforman la cápsula de ***Porphyromona gingivalis***, se describen distintos serotipos bacterianos, los que podrían asociarse a un distinto potencial virulento, a una variable patogenicidad y a una asociación diferente en los estados de salud y enfermedad periodontal (113).

Transmisión

Se ha comprobado que, si existe una transmisión vertical de padres a hijos, desde su desarrollo hasta el nacimiento. Con una muestra de saliva de recién nacido se puede obtener una copia de ADN de ***Porphyromona gingivalis*** que es idéntica a la saliva de la madre (114) (115).

El otro tipo de transmisión es horizontal, y se da entre hermanos y cónyuges. Los medios de transmisión son variados, desde utensilios de comida, útiles de aseo, besos, etc. En caso de que el cónyuge sea periodontalmente sano puede presentar gingivitis con el tiempo, y en el caso de tener gingivitis éste podría evolucionar a periodontitis (116).

Tratamiento mecánico y antimicrobiano

Para la gingivitis y periodontitis, se elimina la placa bacteriana y cálculos acumulados alrededor de las piezas dentarias con un destartraje supragingival y, en caso de hallarse bolsas periodontales, es necesario un raspado y alisado radicular. Sin embargo, es necesario sensibilizar más al paciente sobre su higiene, pues es necesario la modificación de sus hábitos,

alimentación, técnica de cepillado, y la visita periódica al odontólogo. El cuidado de la salud oral debe ser más exigente si el paciente padece de otra enfermedad sistémica.

Los colutorios antibacterianos son de gran utilidad en el control de la placa bacteriana, el digluconato de chlorhexidina es el más efectivo y seguro, disminuyendo hasta un 95% la carga bacteriana usándolo 2 veces por día (117). Y no produce efectos tóxicos pues su naturaleza catiónica minimiza su absorción a través de la piel y mucosas gástricas (118).

CAPÍTULO III

HIPÓTESIS, VARIABLES Y DEFINICIONES OPERACIONALES

3.1 Hipótesis

- **H₁**: El extracto etanólico de *Equisetum arvense* (Cola de caballo) presenta efecto antibacteriano sobre la *Porphyromona gingivalis*.
- **H₀**: El extracto etanólico de *Equisetum arvense* (Cola de caballo) no presenta efecto antibacteriano sobre la *Porphyromona gingivalis*.

3.2. Operacionalización de variables

VARIABLE DE ESTUDIO		INDICADOR	TIPO	ESCALA/VALOR
DEPENDIENTE	<i>Porphyromona gingivalis</i> ATCC 33277	Crecimiento antibacteriano de la cepa	Cuantitativa	Razón

VARIABLE DE ESTUDIO		INDICADOR	TIPO	ESCALA/VALOR
INDEPENDIENTE	Extracto etanólico de <i>Equisetum arvense</i> (Cola de caballo)	Diámetro de halo de inhibición a diferentes concentraciones (25%, 50%, 75% y 100%)	Cuantitativa	Razón
		Diámetro de halo de inhibición (según la escala de Duraffourd)	Categórica	Nula (-) = ≤ 8 mm Sensible límite (+) = 9-14 mm Muy sensible (++) = 15-19 mm Sumamente sensible (+++) = ≥ 20 mm
	Gluconato de Clorhexidina 0,12% (Control Positivo)	Diámetro de halo de inhibición (según la escala de Duraffourd)	Categórica	Nula (-) = ≤ 8 mm Sensible límite (+) = 9-14 mm Muy sensible (++) = 15-19 mm Sumamente sensible (+++) = ≥ 20 mm
	Agua destilada (Control Negativo)	Diámetro de halo de inhibición (según la escala de Duraffourd)	Categórica	Nula (-) = ≤ 8 mm Sensible límite (+) = 9-14 mm Muy sensible (++) = 15-19 mm Sumamente sensible (+++) = ≥ 20 mm

CAPÍTULO IV

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

4.1 Diseño de investigación

Es un estudio experimental, porque se utilizaron técnicas de cultivo en inoculados con cepas de *Porphyromona gingivalis*, a los que se aplicó discos de papel embebidos con diferentes volúmenes y concentraciones de extracto etanólico de *Equisetum arvense*.

4.2 Tipo de la investigación

- Experimental: Porque se empleó un extracto etanólico de *Equisetum arvense* (Cola de caballo) con cuatro volúmenes y concentraciones sobre la *Porphyromona gingivalis*.

- Prospectivo: Porque se obtuvo resultados transcurrido un determinado período.

- Transversal: Porque las variables fueron medidas en un mismo tiempo, para después realizar una comparación entre los volúmenes y concentraciones del *Equisetum arvense*.

- Analítico: Porque es un análisis bivariado, lo que significa que se puso a prueba dos hipótesis distintas.

4.3 **Ámbito de estudio**

El proyecto de investigación se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Salud en la Universidad Privada de Tacna.

4.4 **Población y muestra**

Para la ejecución de este estudio experimental, se utilizó distintos volúmenes y concentraciones de extracto etanólico de *Equisetum arvense* analizando su efecto antimicrobiano.

Población:

Porphyromona gingivalis ATCC 33277

Unidad de análisis:

Placa Petri con cepas de *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277 a las que se les aplicó diferentes concentraciones de extracto etanólico de *Equisetum arvense*.

4.4.1 **Criterios de inclusión**

- Tallo en un buen estado, sin bacterias y hongos.
- Bacterias de *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277 sembrado en agar.

4.4.2 **Criterios de exclusión**

- Tallo con bacterias y hongos.
- Bacterias de *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277 que no hayan sido sembradas en condiciones apropiadas.

4.5 **Instrumento de recolección de datos**

Se diseñó una ficha para el registro de los halos de inhibición en milímetros, de los volúmenes - concentraciones y números de placas realizadas. (ANEXO 01)

4.6. Materiales de Laboratorio

- Autoclave
- Balanza electrónica analítica
- Balanza digital
- Vórtex
- Estufa
- Microscopio
- Refrigeradora
- Placas Petri descartable de 100 x 15 mm
- Papel filtro Whatman N° 4
- Micro pipetas 5 μ L – 50 μ L
- Agua destilada
- Hisopos de madera estéril
- Papel aluminio comercial
- Papel kraft
- Tubos de ensayo
- Alcohol etílico 70°
- Algodón
- Probeta 100 / 1 ml
- Tips para micro pipeta 200 μ L – 1000 μ L
- Tubos de centrifuga 15 ml
- Frascos de vidrio color ámbar 30 ml
- Incubadora
- Mechero de Bunsen
- Espátulas
- Pinzas
- Matraz de laboratorio 250 ml
- Vasos de precipitación de 100 ml
- Medios de cultivo
- Mascarillas desechables

- Guantes quirúrgicos desechables
- Gorro desechable
- Mandil
- Campo descartable
- Marcadores
- Cartulina negra
- Cinta indicadora para esterilizar a vapor

CAPÍTULO V

PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS DE DATOS

5.1. Obtención de especie de *Equisetum arvense*

- **Recolección:** Se recolectaron 5 kilos de Cola de caballo a tempranas horas de la mañana en el distrito de Ilabaya, examinando que se encuentren en buen estado y transportando en bolsas de kraft para preservar su integridad. Se solicitó la identificación taxonómica de esta especie botánica a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, anexando dicha especie en un sobre manila. (Anexo 03)

- **Lavado:** La muestra recaudada fue llevada al “Laboratorio de Microbiología” en el cual se realizó la exclusión de partículas o restos de correspondientes a otras plantas, para luego continuar con el lavado de la muestra con agua destilada y poder desinfectarla con NaOCl 0,5%.

- **Secado:** Los tallos y hojas del *Equisetum arvense* se colocaron sobre un papel kraft y fueron sometidas a la estufa a 50°C por 15 min.

- **Pulverización y tamización:** Una vez secas, fueron pulverizadas con ayuda de un utensilio (licuadora semi-industrial), y luego dicha muestra molida pasó por un cribado para estandarizar la medida de las partículas.

- **Almacenamiento:** Seguidamente la muestra se colocó en pequeños frascos de vidrio para su siguiente uso.

5.2. Obtención del extracto etanólico

Se pesó una cantidad 50 gr de *Equisetum arvense* en polvo, que fue vertido en un frasco de vidrio BOECO agregándole 200 ml de alcohol 70° para el macerado, durante 5 días realizando ciertos movimientos de agitación por 10 minutos 2 veces al día. El macerado se filtró en papel Whatmann N°4, luego se llevó a la estufa a 50°C para su deshidratación hasta obtener un extracto etanólico seco. Luego de obtener esta nueva muestra se pulverizó con la ayuda de un mortero de porcelana hasta obtener una muestra aún más fina. A la cual se le agregó alcohol 70° dando como resultado un extracto etanólico al 100%.

Seguidamente se preparó en cuatro concentraciones:

- 100 ml de extracto etanólico puro = Concentración 100%.
- 30 ml extracto etanólico + 10 ml alcohol 70° = Concentración 75%.
- 20 ml extracto etanólico + 20 ml alcohol 70° = Concentración 50%.
- 10 ml extracto etanólico + 30 ml alcohol 70° = Concentración 25%.

Las concentraciones preparadas se reservaron en frascos ámbar estériles y, con un Vórtex se homogeneizaron todas las mezclas por 30 seg. Finalmente, cada frasco fue envuelto en papel aluminio, rotulado y almacenado en un refrigerador para una mejor conservación hasta su siguiente uso.

5.3. Obtención de la cepa

La cepa microbiana *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277 fue obtenida de un distribuidor de cepas bacterianas en Lima (GenLab).

5.4. Determinación de sensibilidad antibacteriana por el método de difusión en disco

a. Preparación de los medios

Preparación del medio de cultivo Tryptic Soy Agar de 500 gr:

Por instrucciones del fabricante corresponde (40 gr por cada 1000 ml) de agua destilada en un frasco. Al realizarse la mezcla, ésta fue llevada a autoclave por 1 hora, y luego el enfriamiento se hizo a temperatura ambiente. Mientras la mezcla estuvo tibia se repartió el contenido del frasco en 30 placas Petri (90 mm x 15 mm), donde 02 eran para la activación de la cepa bacteriana y 28 para la prueba antibacteriana del extracto etanólico. Al cabo de 5 min donde tomó una consistencia gelatinosa, se rotuló cada placa Petri con el nombre de cada extracto y las concentraciones. Finalmente, fueron llevadas a la incubadora por 24 horas para comprobar su pureza o eliminar aquella que pudo contaminarse en el proceso. Luego de pasar dicha prueba se trasladaron a una refrigeradora para una mejor conservación.

Preparación del medio de Tryptic Soy Broth 500 gr:

Según las instrucciones del fabricante corresponde (30 gr por cada 1000 ml) de agua destilada en un matraz. Al realizarse la mezcla, ésta se dividió entre 3 tubos de ensayo, conteniendo cada uno 40 ml, luego fueron llevados a la autoclave por 1 hora. Para finalizar, se colocaron los tubos rotulados en la refrigeradora para ser utilizado más adelante en la activación de la cepa microbiana: *Porphyromona gingivalis*.

b. Preparación de los discos

Los discos de papel filtro tuvieron un diámetro de 6 mm suficiente para contener volúmenes de 15, 20, 25 y 30 μL del extracto etanólico. El total de discos empleado fue 168, donde 112 corresponden a las concentraciones del extracto y 56 para los grupos controles (positivo y negativo). Los discos se esterilizaron mediante la autoclave a 120°C por 15 min.

c. Activación de la cepa microbiana

La bombilla donde se encuentra la bacteria tiene en su interior un hisopo, el cual permite trasladar pequeñas partículas inactivas de la bacteria hacia una de las placas Petri que contiene el Tryptic Soy Agar, pues ahí es posible la *activación joven* la ***Porphyromona gingivalis*** y que a su vez se formen colonias bacterianas. Por instrucciones del fabricante es necesario llevarlas a la incubadora por 120 horas a 37°C con el fin de crear un ambiente óptimo de crecimiento.

d. Preparación del inóculo bacteriano

Luego de las 120 horas o 5 días, y con un asa bacteriológica estéril, se transportaron algunas partículas al caldo (Tryptic Soy Broth) que se encontraban en 3 tubos de ensayo. Este procedimiento requirió que se incubaran los tubos a 37°C durante 5 horas. Al cabo de dicho tiempo, en un vórtex se homogenizaron las mezclas para que las colonias se dispersen mejor en el caldo y puedan alcanzar una turbidez. Con la inoculación se logra la *activación total* de la bacteria ***Porphyromona gingivalis***.

e. Inoculación de la placa

Para determinar el efecto antibacteriano de la *Porphyromona gingivalis* se empleó el método de “Difusión en disco” con cuatro concentraciones del extracto etanólico de *Equisetum arvense*.

El hisopado es una técnica que consiste en el empleo de un hisopo estéril cuyo extremo carga el caldo preparado con la bacteria activa (Tryptic Soy Broth) y es esparcido 4 veces sobre el agar de una placa Petri (Tryptic Soy Agar) ocupando su totalidad. Luego se deja secar de 5 a 10 minutos a temperatura ambiente y se repite el mismo paso en las 27 placas Petri restantes.

f. Dispensación de discos de papel a las placas inoculadas

Se utilizaron micropipetas de 15, 20, 25 y 30 μL para cargar el extracto etanólico y sus controles positivo y negativo, vertiéndolos inmediatamente en cada disco de papel que eran tomados por una pinza estéril de punta fina.

Cada disco embebido fue colocado cuidadosamente sobre cada placa Petri, verificando que coincida con el volumen y la concentración del extracto.

Cuando todas las placas estuvieron listas, fueron trasladadas rápidamente a dos jarras de anaerobiosis en una posición invertida y dentro de una incubadora a 37°C.

g. Incubación

La *Porphyromona gingivalis* por ser un cocobacilo anaerobio fue incubado en dos jarras de anaerobiosis debido a la cantidad de placas Petri empleadas, con un sobre Gaspak EZ Campy Container System en el interior de cada una, y por un tiempo de 48 a 72 horas a 37°C.

h. Lectura

Transcurrido el tiempo necesario, se midieron todas las zonas circundantes a cada disco de papel (halo de inhibición). El instrumento que se utilizó fue un calibrador digital y el registro fue hecho en milímetros.

Y finalmente, se evaluaron los resultados mediante la escala de Duraffourd:

- Nula (-) para un diámetro inferior a 8 mm.
- Sensibilidad límite (sensible = +) para un diámetro comprendido entre 8 a 14 mm.
- Medio (muy sensible = ++) para un diámetro entre 14 a 20 mm.
- Sumamente sensible (+++) para un diámetro superior a 20 mm.

CAPÍTULO VI

RESULTADOS

Realizados los ensayos en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias de la Salud en la Universidad Privada de Tacna, se determinó el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Equisetum arvense* (Cola de caballo) sobre la *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277, obteniéndose los resultados siguientes:

TABLA 1. ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS DEL EFECTO ANTIBACTERIANO PARA 15 µL DE EXTRACTO ETANÓLICO AL 25%, 50%, 75%, 100% Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA 0,12%.

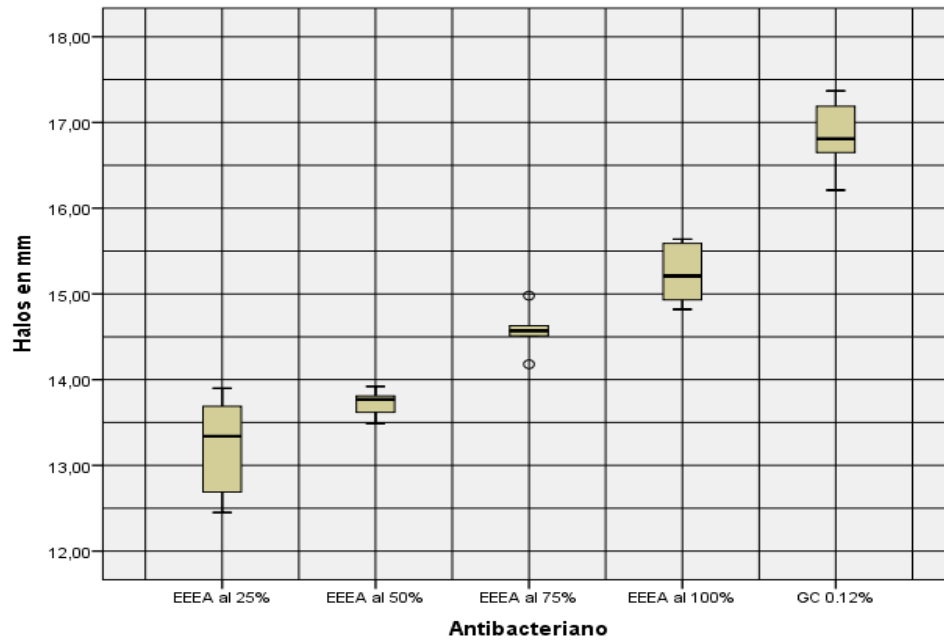
Halos en mm								
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
EEEE al 25%	5	13,2140	,62676	,28030	12,4358	13,9922	12,45	13,90
EEEE al 50%	5	13,7220	,16843	,07533	13,5129	13,9311	13,49	13,92
EEEE al 75%	5	14,5740	,28606	,12793	14,2188	14,9292	14,18	14,98
EEEE al 100%	5	15,2380	,37279	,16672	14,7751	15,7009	14,82	15,64
GC 0.12%	5	16,8460	,45747	,20459	16,2780	17,4140	16,21	17,37
Total	25	14,8388	1,43149	,28630	14,2479	15,4297	12,45	17,37

EEEE: Extracto etanólico de *Equisetum arvense*.

GC: Gluconato de Clorhexidina 0,12%.

Fuente: Elaboración propia.

FIGURA 1. DIAGRAMA DE “CAJA Y BIGOTE” DEL EFECTO ANTIBACTERIANO PARA 15 μ L DE EXTRACTO ETANÓLICO AL 25%, 50%, 75%, 100% Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA 0,12%.



EEEEA: Extracto etanólico de *Equisetum arvense*.

GC: Gluconato de Clorhexidina 0,12%.

Interpretación:

Se observa en la **Tabla 1** los resultados de los estadísticos descriptivos para el extracto etanólico de *E. arvense* de 15 μ L y una concentración de 25%; corresponde a un mínimo de 12,45mm, un máximo de 13,90 mm, con un promedio de 13,2140 mm y una desviación estándar de 0,62676 mm.

En el extracto etanólico de *E. arvense* de 15 μ L y 50% de concentración se tiene un mínimo de 13,49 mm, un máximo de 13,92 mm, con un promedio de 13.7220 mm y una desviación estándar de 0,16843 mm.

Para el extracto etanólico de *E. arvense* de 15 μ L y una concentración de 75%, presenta un mínimo de 14,18 mm, un máximo de 14,98 mm, con un promedio de 14,5740 mm y una desviación estándar de 0,28606 mm.

Para el extracto etanólico de *E. arvense* de 15 μ L y una concentración del 100 % muestra un mínimo de 14,82 mm, un máximo de 15,64 mm, con un promedio de 15,2380 mm y una desviación estándar de 0,37279 mm.

Para el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% presenta un mínimo de 16,21 mm, un máximo de 17,37 mm, con un promedio de 16,8460 mm y una desviación estándar 0,45747 mm.

La **Figura 1** muestra el diagrama de “caja y bigote” del extracto etanólico de *Equisetum arvense* de 15 μ L en diferentes concentraciones y el Gluconato de Clorhexidina 0,12% con su respectiva distribución de datos.

CONTRASTE DE HIPÓTESIS

En **primer lugar**, comprobaremos si los diámetros de los halos de crecimiento (mm) cumplen con el criterio de normalidad basándonos en la prueba de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk por medición y grupo de estudio.

TABLA 2. PRUEBAS DE NORMALIDAD

Antibacteriano		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Halos en mm	EEEE al 25%	.198	5	,200*	.924	5	.557
	EEEE al 50%	.212	5	,200*	.969	5	.871
	EEEE al 75%	.222	5	,200*	.960	5	.811
	EEEE al 100%	.227	5	,200*	.892	5	.369
	GC 0.12%	.174	5	,200*	.970	5	.878

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

H₀: Los datos se distribuyen de manera normal.

H₁: Los datos se distribuyen de manera distinta.

EECEA: Extracto etanólico de *Equisetum arvense*.

GC: Gluconato de Clorhexidina 0,12%.

Fuente: Elaboración propia

Los resultados que se muestran en la **Tabla 2**, corresponden a las pruebas de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk; en la presente investigación el número de datos es menor de 50 datos, por lo que las pruebas de normalidad corresponden a Shapiro – Wilk. La **Tabla 2** muestra que los valores p ó significancia son mayores a 0,05 y aceptamos H₀. Por lo tanto, debe usarse una prueba Paramétrica.

En **segundo lugar**, elegimos la prueba paramétrica de Análisis de varianza (ANOVA) para demostrar la hipótesis del presente trabajo de investigación.

TABLA 3. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA

Halos en mm					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	40.368	4	10.092	59.275	.000
Dentro de grupos	3.405	20	.170		
Total	43.773	24			

H₀: Los valores medios del efecto antibacteriano (diámetro de halos) son iguales.

H₁: Los valores medios del efecto antibacteriano (diámetro de halos) son diferentes.

Fuente: Elaboración propia

Se realiza la prueba de ANOVA para demostrar la diferencia de medias entre los resultados del efecto antibacteriano para una cantidad de 15 µL en diferentes concentraciones de *E. arvensis* y Gluconato de Clorhexidina 0,12%. De acuerdo a la **Tabla 3**, se puede ver que el *p* - valor o significancia es menor a 0,05 por lo tanto rechazamos la hipótesis nula H₀ y aceptamos la hipótesis alterna H₁, existe diferencias de las mediciones del halo en milímetros de crecimiento entre los grupos estudiados.

Adicionalmente, consideraremos una prueba POST HOC de Tukey, para comparaciones múltiples.

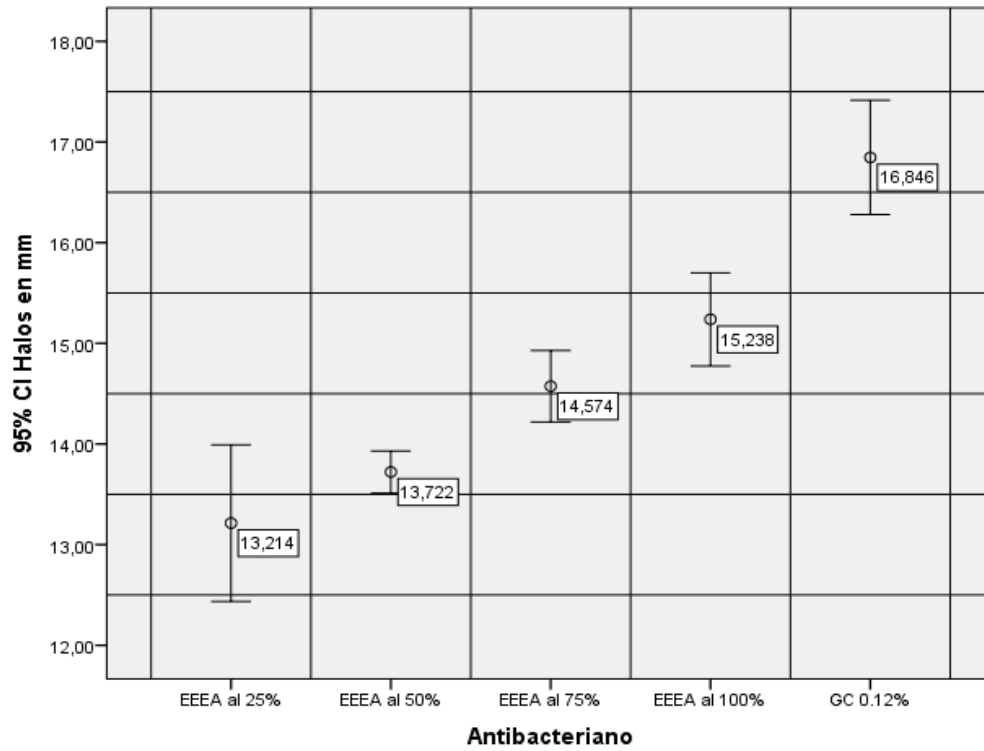
TABLA 4. COMPARACIONES MÚLTIPLES

Variable dependiente:						
HSD Tukey						
(I) Antibacteriano		Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
EEEE al 25%	EEEE al 50%	-.50800	.26096	.326	-1.2889	.2729
	EEEE al 75%	-1,36000*	.26096	.000	-2.1409	-.5791
	EEEE al 100%	-2,02400*	.26096	.000	-2.8049	-1.2431
	GC 0.12%	-3,63200*	.26096	.000	-4.4129	-2.8511
EEEE al 50%	EEEE al 25%	.50800	.26096	.326	-.2729	1.2889
	EEEE al 75%	-,85200*	.26096	.028	-1.6329	-.0711
	EEEE al 100%	-1,51600*	.26096	.000	-2.2969	-.7351
	GC 0.12%	-3,12400*	.26096	.000	-3.9049	-2.3431
EEEE al 75%	EEEE al 25%	1,36000*	.26096	.000	.5791	2.1409
	EEEE al 50%	,85200*	.26096	.028	.0711	1.6329
	EEEE al 100%	-.66400	.26096	.120	-1.4449	.1169
	GC 0.12%	-2,27200*	.26096	.000	-3.0529	-1.4911
EEEE al 100%	EEEE al 25%	2,02400*	.26096	.000	1.2431	2.8049
	EEEE al 50%	1,51600*	.26096	.000	.7351	2.2969
	EEEE al 75%	.66400	.26096	.120	-.1169	1.4449
	GC 0.12%	-1,60800*	.26096	.000	-2.3889	-.8271
GC 0.12%	EEEE al 25%	3,63200*	.26096	.000	2.8511	4.4129
	EEEE al 50%	3,12400*	.26096	.000	2.3431	3.9049
	EEEE al 75%	2,27200*	.26096	.000	1.4911	3.0529
	EEEE al 100%	1,60800*	.26096	.000	.8271	2.3889

*: La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

Fuente: Elaboración propia

FIGURA 2. INTERVALO DE CONFIANZA DEL EFECTO ANTIBACTERIANO PARA 15 μ L DE EXTRACTO ETANÓLICO AL 25%, 50%, 75%, 100% Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA 0,12%.



EEEEA: Extracto etanólico de *Equisetum arvense*.

GC: Gluconato de Clorhexidina 0,12%.

Interpretación:

En la **Figura 2**, se muestra la distribución por efecto antibacteriano medido por el diámetro del halo inhibitorio en milímetros, donde se puede apreciar los intervalos de confianza para 15 μ L en las diferentes concentraciones del extracto etanólico del *E. arvense* en relación al Gluconato de Clorhexidina 0,12%; en consecuencia, se puede apreciar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la *E. arvense* no supera al halo inhibitorio del Gluconato de Clorhexidina 0,12%.

La **Figura 2** muestra que según Duraffourd, el extracto etanólico de la *E. arvense* de 15 μ L al 25% y al 50% presentan sensibilidad límite (+) mientras que las concentraciones del extracto etanólico de la *E. arvense* de 15 μ L al 75%, 100% y el Gluconato de Clorhexidina 0,12% presenta inhibición de crecimiento antibacteriano muy sensible (++) .

TABLA 5. ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS DEL EFECTO ANTIBACTERIANO PARA 20 µL DE EXTRACTO ETANÓLICO AL 25%, 50%, 75%, 100% Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA 0,12%.

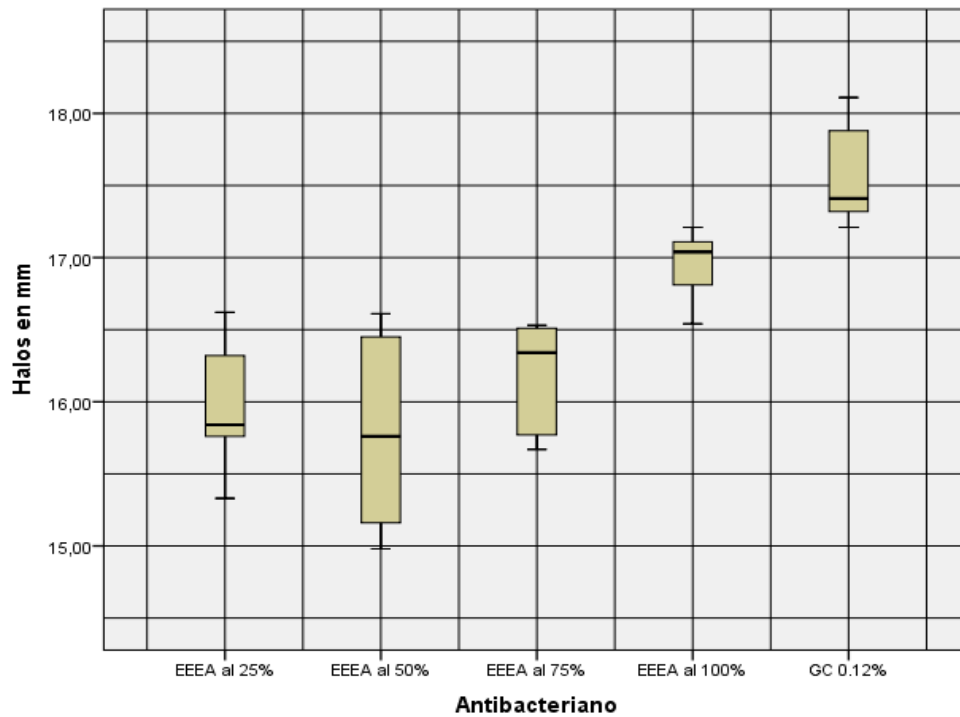
Halos en mm								
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
EEEE al 25%	5	15.9740	.50387	.22534	15.3484	16.5996	15.33	16.62
EEEE al 50%	5	15.7920	.73517	.32878	14.8792	16.7048	14.98	16.61
EEEE al 75%	5	16.1640	.41350	.18492	15.6506	16.6774	15.67	16.53
EEEE al 100%	5	16.9420	.26864	.12014	16.6084	17.2756	16.54	17.21
GC 0.12%	5	17.5860	.38863	.17380	17.1035	18.0685	17.21	18.11
Total	25	16.4916	.81854	.16371	16.1537	16.8295	14.98	18.11

EEEE: Extracto etanólico de *Equisetum arvense*.

GC: Gluconato de Clorhexidina 0,12%.

Fuente: Elaboración propia.

FIGURA 3. DIAGRAMA DE “CAJA Y BIGOTE” DEL EFECTO ANTIBACTERIANO PARA 20 μ L DE EXTRACTO ETANÓLICO AL 25%, 50%, 75%, 100% Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA 0,12%.



EEEEA: Extracto etanólico de *Equisetum arvense*.

GC: Gluconato de Clorhexidina 0,12%.

Interpretación:

Se observa en la **Tabla 5** los resultados de los estadísticos descriptivos para el extracto etanólico de *E. arvense* de 20 µL al 25% de concentración corresponde a un mínimo de 15,33 mm, un máximo de 16,62 mm, con un promedio de 15,9740 mm y una desviación estándar de 0,50387 mm.

En el extracto etanólico de *E. arvense* de 20 µL al 50% de concentración se tiene un mínimo de 14,98 mm, un máximo de 16,61 mm, con un promedio de 15,7920 mm y una desviación estándar de 0,73517 mm.

Para el extracto etanólico de *E. arvense* de 20 µL al 75% de concentración presenta un mínimo de 15,67 mm, un máximo de 16,53 mm, con un promedio de 16,1640 mm y una desviación estándar de 0,41350 mm.

Para el extracto etanólico de *E. arvense* de 20 µL al 100% de concentración muestra un mínimo de 16,54 mm, un máximo de 17,21 mm, con un promedio de 16,9420 mm y una desviación estándar de 0,26864 mm.

Para el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% presenta un mínimo de 17,21 mm, un máximo de 18,11 mm, con un promedio de 17,5860 mm y una desviación estándar 0,38863 mm.

La **Figura 3** muestra el diagrama de “caja y bigotes” del extracto etanólico de *Equisetum arvense* de 20 µL en diferentes concentraciones y el Gluconato de Clorhexidina 0,12% con su respectiva distribución de datos.

CONTRASTE DE HIPÓTESIS

Comprobaremos si los diámetros de los halos de crecimiento (mm) cumplen con el criterio de normalidad basándonos en la prueba de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk por medición y grupo de estudio.

TABLA 6. PRUEBAS DE NORMALIDAD

Antibacteriano		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Halos en mm	EEEE al 25%	.205	5	,200*	.970	5	.876
	EEEE al 50%	.215	5	,200*	.900	5	.409
	EEEE al 75%	.265	5	,200*	.823	5	.123
	EEEE al 100%	.242	5	,200*	.928	5	.586
	GC 0.12%	.275	5	,200*	.890	5	.358

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

H₀: Los datos se distribuyen de manera normal.

H₁: Los datos se distribuyen de manera distinta.

EECS: Extracto etanólico de *Equisetum arvense*.

GC: Gluconato de Clorhexidina 0,12%.

Fuente: Elaboración propia

Los resultados que se muestran en la **Tabla 6**, corresponden a las pruebas de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk; en la presente investigación el número de datos es menor de 50 datos, por lo que las pruebas de normalidad corresponden a Shapiro – Wilk. La Tabla 6 muestra que los valores p ó significancia son mayores a 0,05 y aceptamos H₀.

Por lo tanto, elegimos la prueba paramétrica de Análisis de varianza (ANOVA) para demostrar la hipótesis del presente trabajo de investigación.

TABLA 7. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA

Halos en mm					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	11.326	4	2.832	11.912	.000
Dentro de grupos	4.754	20	.238		
Total	16.080	24			

H₀: Los valores medios del efecto antibacteriano (diámetro de halos) son iguales.

H₁: Los valores medios del efecto antibacteriano (diámetro de halos) son diferentes.

Fuente: Elaboración propia

Se realiza la prueba de ANOVA para demostrar la diferencia de medias entre los resultados del efecto antibacteriano de las diferentes concentraciones de *Equisetum arvense* y Gluconato de clorhexidina. De acuerdo a la **Tabla 7**, se puede ver que el *p* - valor o significancia es menor a 0,05 por lo tanto existe diferencias de las mediciones del halo en milímetros de crecimiento entre los grupos estudiados.

Adicionalmente, consideraremos una prueba POST HOC de Tukey para comparaciones múltiples.

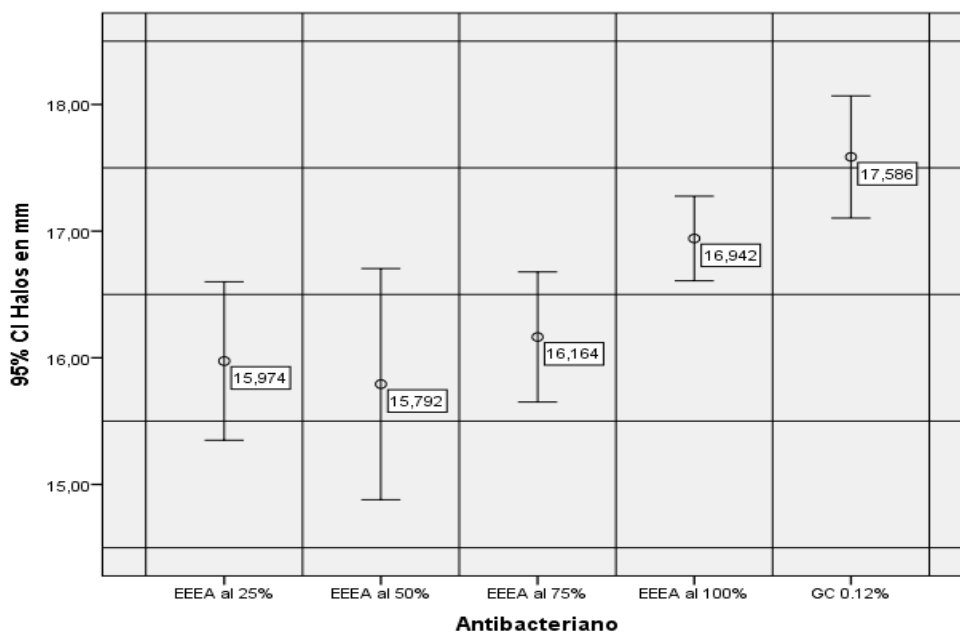
TABLA 8. COMPARACIONES MÚLTIPLES

Variable dependiente:						
HSD Tukey						
(I) Antibacteriano		Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
EEEE al 25%	EEEE al 50%	.18200	.30835	.975	-.7407	1.1047
	EEEE al 75%	-.19000	.30835	.971	-1.1127	.7327
	EEEE al 100%	-.96800*	.30835	.037	-1.8907	-.0453
	GC 0.12%	-1,61200*	.30835	.000	-2.5347	-.6893
EEEE al 50%	EEEE al 25%	-.18200	.30835	.975	-1.1047	.7407
	EEEE al 75%	-.37200	.30835	.748	-1.2947	.5507
	EEEE al 100%	-1,15000*	.30835	.010	-2.0727	-.2273
	GC 0.12%	-1,79400*	.30835	.000	-2.7167	-.8713
EEEE al 75%	EEEE al 25%	.19000	.30835	.971	-.7327	1.1127
	EEEE al 50%	.37200	.30835	.748	-.5507	1.2947
	EEEE al 100%	-.77800	.30835	.125	-1.7007	.1447
	GC 0.12%	-1,42200*	.30835	.001	-2.3447	-.4993
EEEE al 100%	EEEE al 25%	.96800*	.30835	.037	.0453	1.8907
	EEEE al 50%	1,15000*	.30835	.010	.2273	2.0727
	EEEE al 75%	.77800	.30835	.125	-.1447	1.7007
	GC 0.12%	-.64400	.30835	.263	-1.5667	.2787
GC 0.12%	EEEE al 25%	1,61200*	.30835	.000	.6893	2.5347
	EEEE al 50%	1,79400*	.30835	.000	.8713	2.7167
	EEEE al 75%	1,42200*	.30835	.001	.4993	2.3447
	EEEE al 100%	.64400	.30835	.263	-.2787	1.5667

*: La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

Fuente: Elaboración propia

FIGURA 4. INTERVALO DE CONFIANZA DEL EFECTO ANTIBACTERIANO PARA 20 μ L DE EXTRACTO ETANOLICO AL 25%, 50%, 75%, 100% Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA 0,12%.



EEEEA: Extracto etanólico de *Equisetum arvense*.

GC: Gluconato de Clorhexidina 0,12%.

En la **Figura 4**, se muestra la distribución por efecto antibacteriano medido por el diámetro del halo inhibitorio en milímetros, donde se puede apreciar los intervalos de confianza para las diferentes concentraciones del extracto etanólico de la *Equisetum arvense* en relación al Gluconato de Clorhexidina 0,12%; en consecuencia, el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la *Equisetum arvense* no supera al halo inhibitorio del Gluconato de Clorhexidina 0,12%.

La **Figura 4**, muestran que según Duraffourd, el extracto etanólico de la *Equisetum arvense* de 20 μ L al 25%, 50%, 75% y 100% y el Gluconato de Clorhexidina 0,12% presenta inhibición de crecimiento antibacteriano muy sensible (++) .

TABLA 9. ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS DEL EFECTO ANTIBACTERIANO PARA 25 µL DE EXTRACTO ETANÓLICO AL 25%, 50%, 75%, 100% Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA 0,12%.

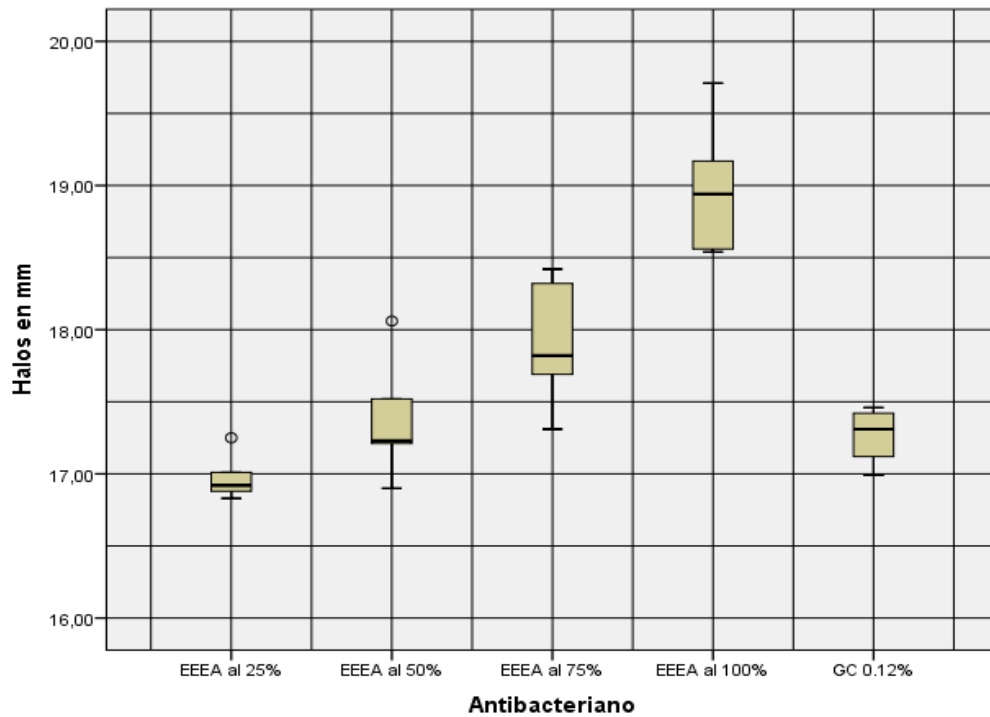
Halos en mm								
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
EEEE al 25%	5	16.9780	.16574	.07412	16.7722	17.1838	16.83	17.25
EEEE al 50%	5	17.3840	.43696	.19541	16.8414	17.9266	16.90	18.06
EEEE al 75%	5	17.9120	.45953	.20551	17.3414	18.4826	17.31	18.42
EEEE al 100%	5	18.9840	.48490	.21685	18.3819	19.5861	18.54	19.71
GC 0.12%	5	17.2600	.20037	.08961	17.0112	17.5088	16.99	17.46
Total	25	17.7036	.80002	.16000	17.3734	18.0338	16.83	19.71

EEEE: Extracto etanólico de *Equisetum arvense*.

GC: Gluconato de Clorhexidina 0,12%.

Fuente: Elaboración propia.

FIGURA 5. DIAGRAMA DE “CAJA Y BIGOTE” DEL EFECTO ANTIBACTERIANO PARA 25 μ L DE EXTRACTO ETANÓLICO AL 25%, 50%, 75%, 100% Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA 0,12%.



EEEEA: Extracto etanólico de *Equisetum arvense*.

GC: Gluconato de Clorhexidina 0,12%.

Interpretación:

Se observa en la **Tabla 9** los resultados de los estadísticos descriptivos para el extracto etanólico de *E. arvense* de 25 μ L al 25% de concentración corresponde a un mínimo de 16,83 mm, un máximo de 17,25 mm, con un promedio de 16,9780 mm y una desviación estándar de 0,16574 mm.

En el extracto etanólico de *E. arvense* de 25 μ L al 50% de concentración se tiene un mínimo de 16,90 mm, un máximo de 18,06 mm, con un promedio de 17,3840 mm y una desviación estándar de 0,43696 mm.

Para el extracto etanólico de *E. arvense* de 25 μ L al 75% de concentración presenta un mínimo de 17,31 mm, un máximo de 18,42 mm, con un promedio de 17,9120 mm y una desviación estándar de 0,45953 mm.

Para el extracto etanólico de *E. arvense* de 25 μ L al 100% de concentración muestra un mínimo de 18,54 mm, un máximo de 19,71 mm, con un promedio de 18,9840 mm y una desviación estándar de 0,48490 mm.

Para el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% presenta un mínimo de 16,99 mm, un máximo de 17,46 mm, con un promedio de 17,2600 mm y una desviación estándar 0,20037 mm.

La **Figura 5** muestra el diagrama de “caja y bigote” del extracto etanólico de *Equisetum arvense* de 25 μ L en diferentes concentraciones y Gluconato de Clorhexidina 0,12% con su respectiva distribución de datos.

CONTRASTE DE HIPÓTESIS

Probaremos si los diámetros de los halos de crecimiento (mm) cumplen con el criterio de normalidad basándonos en la prueba de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk por medición y grupo de estudio.

TABLA 10. PRUEBAS DE NORMALIDAD

Antibacteriano		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Halos en mm	EEEE al 25%	.237	5	,200*	.878	5	.298
	EEEE al 50%	.238	5	,200*	.937	5	.643
	EEEE al 75%	.213	5	,200*	.937	5	.647
	EEEE al 100%	.209	5	,200*	.909	5	.464
	GC 0.12%	.199	5	,200*	.922	5	.542

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

H₀: Los datos se distribuyen de manera normal.

H₁: Los datos se distribuyen de manera distinta.

EEEE: Extracto etanólico de *Equisetum arvense*.

GC: Gluconato de Clorhexidina 0,12%.

Fuente: Elaboración propia

Los resultados que se muestran en la **Tabla 10** corresponden a las pruebas de normalidad; el número de datos es menor de 50, por lo que las pruebas de normalidad corresponden a Shapiro – Wilk. La **Tabla 10** muestra que los valores p ó significancia son mayores a 0,05 y aceptamos H₀. Por lo tanto, debe usarse la prueba paramétrica de Análisis de varianza (ANOVA).

TABLA 11. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA

Halos en mm					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	12.541	4	3.135	22.241	.000
Dentro de grupos	2.819	20	.141		
Total	15.361	24			

H₀: Los valores medios del efecto antibacteriano (diámetro de halos) son iguales.

H₁: Los valores medios del efecto antibacteriano (diámetro de halos) son diferentes.

Fuente: Elaboración propia

Se realiza la prueba de ANOVA para demostrar la diferencia de medias entre los resultados del efecto antibacteriano de 25 µL en diferentes concentraciones de *Equisetum arvense* y Gluconato de Clorhexidina 0,12%. De acuerdo a la **Tabla 11**, se puede ver que el *p* - valor o significancia es menor a 0,05 por lo tanto existe diferencias de las mediciones del halo en milímetros de crecimiento entre los grupos estudiados.

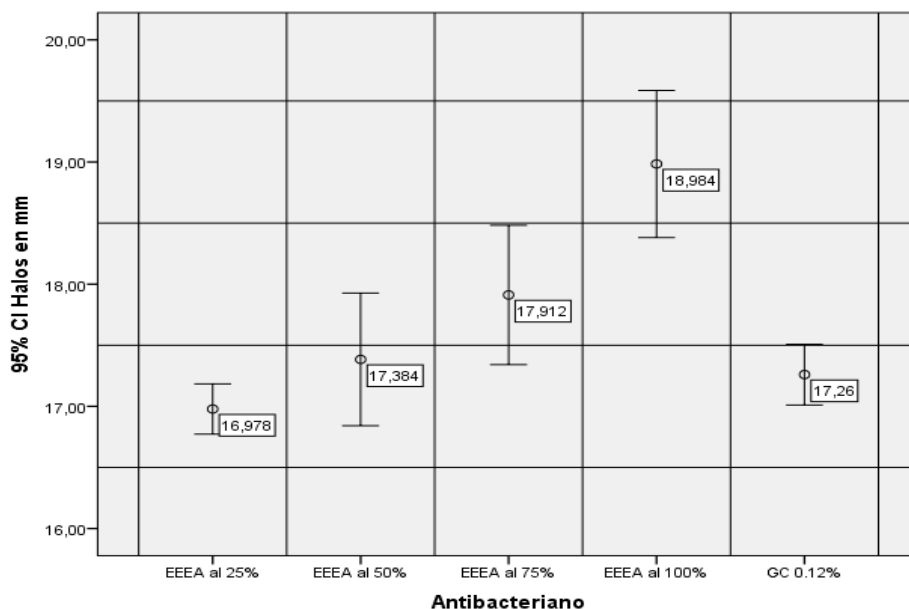
Adicionalmente, consideraremos una prueba POST HOC de Tukey para comparaciones múltiples.

TABLA 12. COMPARACIONES MÚLTIPLES

Variable dependiente:						
HSD Tukey						
(I) Antibacteriano		Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
EEEE al 25%	EEEE al 50%	-.40600	.23746	.451	-1.1166	.3046
	EEEE al 75%	-,93400*	.23746	.007	-1.6446	-.2234
	EEEE al 100%	-2,00600*	.23746	.000	-2.7166	-1.2954
	GC 0.12%	-.28200	.23746	.758	-.9926	.4286
EEEE al 50%	EEEE al 25%	.40600	.23746	.451	-.3046	1.1166
	EEEE al 75%	-.52800	.23746	.212	-1.2386	.1826
	EEEE al 100%	-1,60000*	.23746	.000	-2.3106	-.8894
	GC 0.12%	.12400	.23746	.984	-.5866	.8346
EEEE al 75%	EEEE al 25%	,93400*	.23746	.007	.2234	1.6446
	EEEE al 50%	.52800	.23746	.212	-.1826	1.2386
	EEEE al 100%	-1,07200*	.23746	.002	-1.7826	-.3614
	GC 0.12%	.65200	.23746	.082	-.0586	1.3626
EEEE al 100%	EEEE al 25%	2,00600*	.23746	.000	1.2954	2.7166
	EEEE al 50%	1,60000*	.23746	.000	.8894	2.3106
	EEEE al 75%	1,07200*	.23746	.002	.3614	1.7826
	GC 0.12%	1,72400*	.23746	.000	1.0134	2.4346
GC 0.12%	EEEE al 25%	.28200	.23746	.758	-.4286	.9926
	EEEE al 50%	-.12400	.23746	.984	-.8346	.5866
	EEEE al 75%	-.65200	.23746	.082	-1.3626	.0586
	EEEE al 100%	-1,72400*	.23746	.000	-2.4346	-1.0134

Fuente: Elaboración propia

FIGURA 6. INTERVALO DE CONFIANZA DEL EFECTO ANTIBACTERIANO PARA 25 μ L DE EXTRACTO ETANÓLICO AL 25%, 50%, 75%, 100% Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA 0,12%.



EEEA: Extracto etanólico de *Equisetum arvense*.

GC: Gluconato de Clorhexidina 0,12%.

En la **Figura 6**, se muestra la distribución por efecto antibacteriano medido por el diámetro del halo inhibitorio en milímetros, donde se puede apreciar los intervalos de confianza para 25 μ L en diferentes concentraciones del extracto etanólico de la *E. arvense* en relación al Gluconato de Clorhexidina 0,12%; en consecuencia, el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la *E. arvense* para 25 μ L en concentraciones de 50%, 75% y 100% supera al halo inhibitorio del Gluconato de Clorhexidina 0,12%.

La **Figura 6**, demuestra que según Duraffourd, el extracto etanólico de la *E. arvense* de 25 μ L al 25%, 50%, 75%, 100% y el Gluconato de Clorhexidina 0,12% presenta inhibición de crecimiento antibacteriano muy sensible (++).

TABLA 13. ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS DEL EFECTO ANTIBACTERIANO PARA 30 µL DE EXTRACTO ETANÓLICO AL 25%, 50%, 75%, 100% Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA 0,12%.

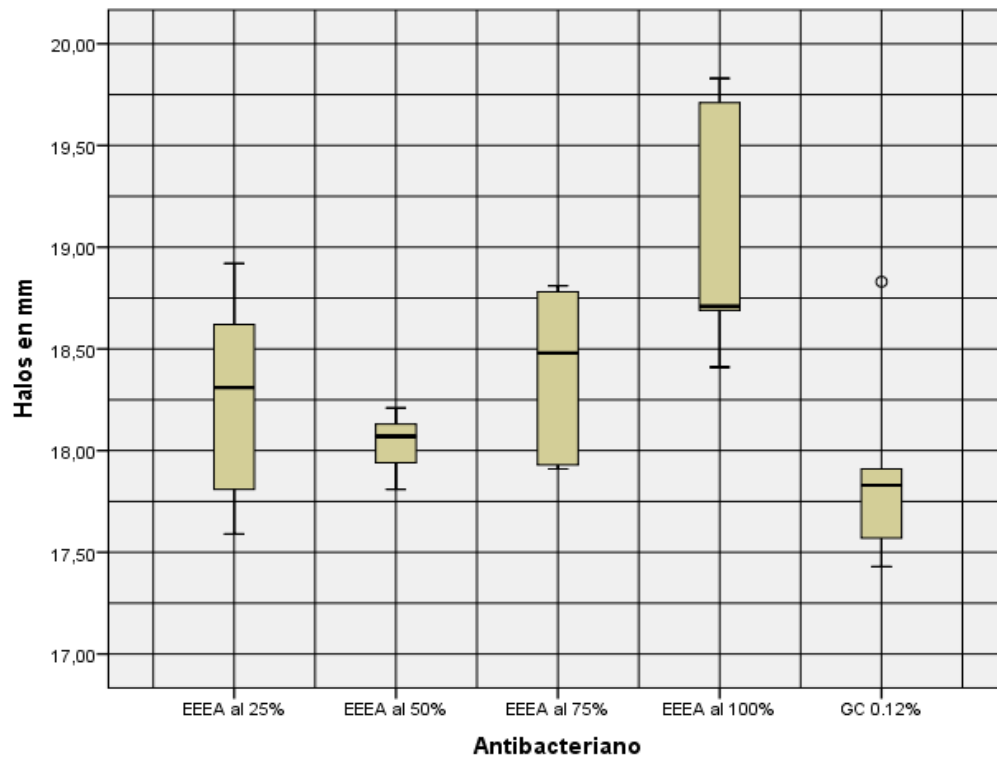
Halos en mm								
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
EEEE al 25%	5	18.2500	.55195	.24684	17.5647	18.9353	17.59	18.92
EEEE al 50%	5	18.0320	.15849	.07088	17.8352	18.2288	17.81	18.21
EEEE al 75%	5	18.3820	.44110	.19727	17.8343	18.9297	17.91	18.81
EEEE al 100%	5	19.0700	.65131	.29127	18.2613	19.8787	18.41	19.83
GC 0.12%	5	17.9140	.54743	.24482	17.2343	18.5937	17.43	18.83
Total	25	18.3296	.61528	.12306	18.0756	18.5836	17.43	19.83

EEEE: Extracto etanólico de *Equisetum arvense*.

GC: Gluconato de Clorhexidina 0,12%.

Fuente: Elaboración propia.

FIGURA 7. DIAGRAMA DE “CAJA Y BIGOTE” DEL EFECTO ANTIBACTERIANO PARA 30 μ L DE EXTRACTO ETANÓLICO AL 25%, 50%, 75%, 100% Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA 0,12%.



EEEEA: Extracto etanólico de *Equisetum arvense*.

GC: Gluconato de Clorhexidina 0,12%.

Interpretación:

Se observa en la **Tabla 13** los resultados de los estadísticos descriptivos para el extracto etanólico de *E. arvense* de 30 μ L al 25% de concentración corresponde a un mínimo de 17,59 mm, un máximo de 18,92 mm, con un promedio de 18,2500 mm y una desviación estándar de 0,55195 mm.

En el extracto etanólico de *E. arvense* de 30 μ L al 50% de concentración se tiene un mínimo de 17,81 mm, un máximo de 18,21 mm, con un promedio de 18,0320 mm y una desviación estándar de 0,15849 mm.

Para el extracto etanólico de *E. arvense* de 30 μ L al 75% de concentración presenta un mínimo de 17,91 mm, un máximo de 18,81 mm, con un promedio de 18,3820 mm y una desviación estándar de 0,44110 mm.

Para el extracto etanólico de *E. arvense* de 30 μ L al 100% de concentración muestra un mínimo de 18,41 mm, un máximo de 19,83 mm, con un promedio de 19,0700 mm y una desviación estándar de 0,65131mm.

Para el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% presenta un mínimo de 17,43 mm, un máximo de 18,83 mm, con un promedio de 17,9140 mm y una desviación estándar 0,54743 mm.

La **Figura 7** muestra el diagrama de “caja y bigote” del extracto etanólico de *Equisetum arvense* de 30 μ L en diferentes concentraciones y Gluconato de Clorhexidina 0,12% con su respectiva distribución de datos.

CONTRASTE DE HIPÓTESIS

Demostraremos si los diámetros de los halos de crecimiento (mm) cumplen con el criterio de normalidad basándonos en la prueba de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk por medición y grupo de estudio.

TABLA 14. PRUEBAS DE NORMALIDAD

Antibacteriano		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Halos en mm	EEEEA al 25%	.187	5	,200*	.956	5	.782
	EEEEA al 50%	.195	5	,200*	.967	5	.856
	EEEEA al 75%	.247	5	,200*	.829	5	.137
	EEEEA al 100%	.310	5	.132	.835	5	.150
	GC 0.12%	.303	5	.150	.855	5	.212

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

H₀: Los datos se distribuyen de manera normal.

H₁: Los datos se distribuyen de manera distinta.

EEEEA: Extracto etanólico de *Equisetum arvense*.

GC: Gluconato de Clorhexidina 0,12%.

Fuente: Elaboración propia

Los resultados que se muestran en la **Tabla 14**, corresponden a las pruebas de normalidad de Shapiro – Wilk. La Tabla 14 muestra que los valores p ó significancia son mayores a 0,05 y aceptamos H₀. Por lo tanto, elegimos la prueba paramétrica de Análisis de varianza (ANOVA).

TABLA 15. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA

Halos en mm					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	4.093	4	1.023	4.099	.014
Dentro de grupos	4.993	20	.250		
Total	9.086	24			

H₀: Los valores medios del efecto antibacteriano (diámetro de halos) son iguales.

H₁: Los valores medios del efecto antibacteriano (diámetro de halos) son diferentes.

Fuente: Elaboración propia

Se realiza la prueba de ANOVA para demostrar la diferencia de medias entre los resultados del efecto antibacteriano de 30 µL en diferentes concentraciones de *E. arvensis* y Gluconato de Clorhexidina 0,12%. De acuerdo a la **Tabla 15**, se puede ver que el *p*-valor o significancia es menor a 0,05 por lo tanto existe diferencias de las mediciones del halo en milímetros de crecimiento entre los grupos estudiados.

Por lo tanto, rechazamos la H₀ llegando a una decisión de que se acepta la hipótesis alterna H₁.

Adicionalmente, consideraremos una prueba POST HOC de Tukey para comparaciones múltiples.

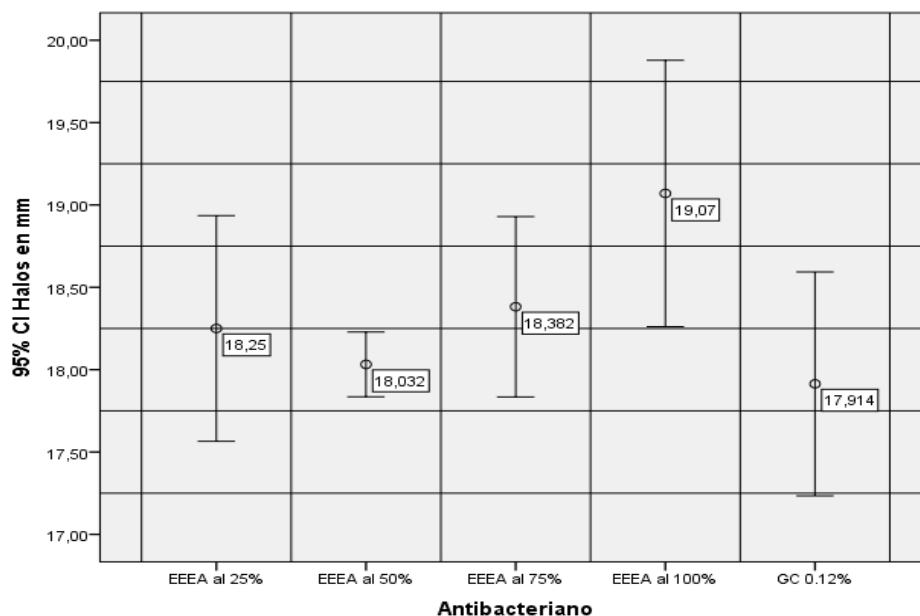
TABLA 16. COMPARACIONES MÚLTIPLES

Variable dependiente:						
HSD Tukey						
(I) Antibacteriano		Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
EEEE al 25%	EEEE al 50%	.21800	.31600	.956	-.7276	1.1636
	EEEE al 75%	-.13200	.31600	.993	-1.0776	.8136
	EEEE al 100%	-.82000	.31600	.109	-1.7656	.1256
	GC 0.12%	.33600	.31600	.823	-.6096	1.2816
EEEE al 50%	EEEE al 25%	-.21800	.31600	.956	-1.1636	.7276
	EEEE al 75%	-.35000	.31600	.801	-1.2956	.5956
	EEEE al 100%	-1,03800*	.31600	.027	-1.9836	-.0924
	GC 0.12%	.11800	.31600	.996	-.8276	1.0636
EEEE al 75%	EEEE al 25%	.13200	.31600	.993	-.8136	1.0776
	EEEE al 50%	.35000	.31600	.801	-.5956	1.2956
	EEEE al 100%	-.68800	.31600	.228	-1.6336	.2576
	GC 0.12%	.46800	.31600	.586	-.4776	1.4136
EEEE al 100%	EEEE al 25%	.82000	.31600	.109	-.1256	1.7656
	EEEE al 50%	1,03800*	.31600	.027	.0924	1.9836
	EEEE al 75%	.68800	.31600	.228	-.2576	1.6336
	GC 0.12%	1,15600*	.31600	.012	.2104	2.1016
GC 0.12%	EEEE al 25%	-.33600	.31600	.823	-1.2816	.6096
	EEEE al 50%	-.11800	.31600	.996	-1.0636	.8276
	EEEE al 75%	-.46800	.31600	.586	-1.4136	.4776
	EEEE al 100%	-1,15600*	.31600	.012	-2.1016	-.2104

*: La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

Fuente: Elaboración propia

FIGURA 8. INTERVALO DE CONFIANZA DEL EFECTO ANTIBACTERIANO PARA 30 μ L DE EXTRACTO ETANÓLICO AL 25%, 50%, 75%, 100% Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA 0,12%.



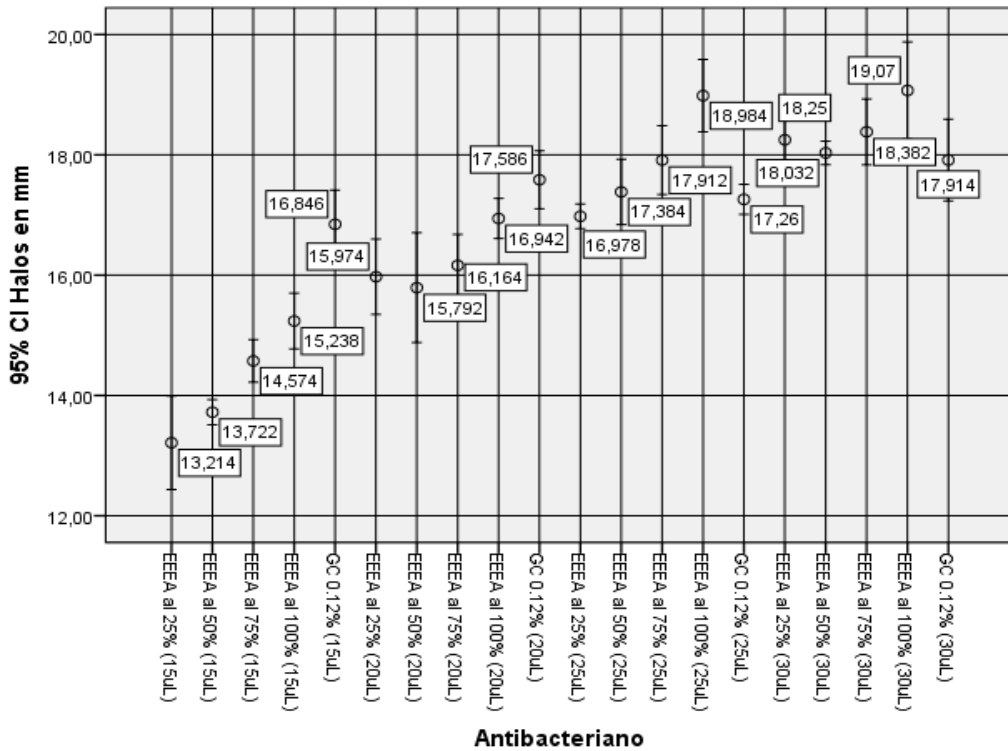
EEEA: Extracto etanólico de *Equisetum arvense*.

GC: Gluconato de Clorhexidina 0,12%.

En la **Figura 8**, se muestra la distribución por efecto antibacteriano medido por el diámetro del halo inhibitorio en mm, donde se puede apreciar los intervalos de confianza para 30 μ L en las diferentes concentraciones del extracto etanólico de la *E. arvense* en relación al Gluconato de Clorhexidina 0,12%; en consecuencia, la media del efecto antibacteriano del extracto etanólico de la *E. arvense* supera a la media del halo inhibitorio del Gluconato de Clorhexidina al 0,12%.

La **Figura 8**, muestran que según Duraffourd, el extracto etanólico de la *E. arvense* al 25%, 50%, 75%, 100% y el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% presenta inhibición de crecimiento antibacteriano muy sensible (++) .

FIGURA 9. INTERVALOS DE CONFIANZA DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO A DIFERENTES CANTIDADES Y CONCENTRACIONES.



Es razonable pensar que, a mayores cantidades de una sustancia antibacteriana, el resultado debería ser directamente proporcional a su efecto antibacteriano, en la figura 9, se puede apreciar esta proporcionalidad directa entre la cantidad del extracto etanólico de *E. arvensis* y su efecto antibacteriano, es decir, a mayores cantidades del extracto etanólico de *E. arvensis* mejor su efectividad antibacteriana. De la misma manera sucede con las concentraciones del extracto etanólico de *E. arvensis* (25%, 50%, 75% y 100%), es decir a mayor volumen/concentración, mayor efectividad antibacteriana.

DISCUSIÓN

Gracias a que nuestro país es rico en biodiversidad animal y vegetal; es que contamos con la medicina tradicional/alternativa/complementaria que se basa en la utilización de plantas “fitoterapia”; muchas de ellas han demostrado tener efecto analgésico, antiinflamatorio, antibiótico, etc. incluso mucho antes de que fueran estudiadas y analizadas científicamente. En la actualidad todavía las personas utilizan las plantas de su zona para tratar enfermedades, ya que algunos viven en zonas alejadas de difícil acceso a un centro de salud o tienen limitaciones económicas. El ***Equisetum arvense*** (Cola de caballo) que crece en zonas húmedas y fangosas tiene una acción diurética, es decir actúa a nivel renal, sin embargo, también efectos como antioxidante, anticancerígeno, anticoagulante, etc.

Por otro lado, se encuentra la ***Porphyromona gingivalis*** que es una de las principales causantes de la gingivitis y periodontitis. En el Perú, la todavía conocida “enfermedad periodontal” es la segunda patología con mayor prevalencia, la primera es la caries, dentro del sector de salud bucal. Desde muy temprana edad algunos niños y jóvenes presentan signos, pero no síntomas, y sin visitas periódicas al odontólogo, esta enfermedad se torna crónica y con efectos irreversibles a nivel periodontal e incluso dental.

En la última década, Medina (26), Calsin (27), Cáceres (28) entre otros han estudiado las propiedades antimicrobianas del *E. Arvense* y su efecto a nivel renal y pocos para la salud bucal. En tal sentido, siguiendo la línea científica es que se ha estudiado frente a la *P. gingivalis* ATCC 33277; por lo cual, este estudio tuvo como objetivo comprobar *in vitro* la existencia de las propiedades antibacterianas del extracto acuoso y etanólico de *Equisetum Arvense* “la cola de caballo” frente a *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277 utilizando el método de difusión en agar; con la finalidad de tener mayor conocimiento de sus propiedades y continuar o crear una línea

de investigación enmarcada en la creación de un producto como agente antibacteriano.

En este contexto, se han desarrollado varios estudios: **Medina** (26), que trabajó con cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*, bacterias y hongo uropatógenos, encontró que su extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. mostró mayor efecto antibacteriano frente a bacterias gram positivas y hongos como es el caso de *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*, mientras que frente a las bacterias gram negativas como *Escherichia coli*, mostraron menos efecto antimicrobiano, pero se necesita mayor concentración. La *Porphyromona gingivalis* es una bacteria gram negativa, pero en este caso el extracto etanólico si presentó actividad antibacteriana a partir del 25 µL al 100%.

En el estudio de **Calsin** (27); se utilizó tallos en un buen estado, sin bacterias y hongos de *Equisetum arvense* para preparar los extractos acuoso y etanólico de *Equisetum arvense*; con el extracto terminado se evaluaron las propiedades antibacterianas para la cual existen varios métodos; sin embargo, el más utilizado en los estudios *in vitro* es el de difusión en agar, debido a que sus resultados son altamente reproducibles y se puede realizar a través de discos. Es por ello que se utilizó dicho método en el presente estudio.

Las investigaciones realizadas a esta planta utilizaron en su gran mayoría la técnica de difusión en agar con discos, como es el caso de **Cáceres** (28), quien observó que el extracto de “cola de caballo” al 50%, y 100% tuvieron un promedio de inhibición que fue de 9.93 mm y 12.23 mm respectivamente, concluyendo que a mayor concentración se evidencia mayor efecto antibacteriano. Así mismo Huarino (119) Montenegro (120) evaluaron el extracto alcohólico de *C. spinosa* (Tara) sobre flora salival mixta y *Porphyromonas gingivalis* respectivamente, para lo cual ambos utilizaron el método de difusión con discos en concentraciones desde 6,5mg/ml hasta 75 mg/ml obteniendo para la primera investigación halos

de inhibición de 12mm hasta 17,6mm, mientras que el segundo encontró halos de 7mm hasta 12.5mm. A pesar de que estos dos autores hicieron investigaciones similares; es decir, utilizaron la misma concentración, solvente y método, pero con especies de bacterias diferentes; sus estudios llegaron a distintas conclusiones; mientras que el primero reporta que, a mayor halo, mayor concentración; el segundo menciona que no hay diferencia significativa entre los halos de inhibición y las concentraciones estudiadas. De acuerdo a lo reportado en este estudio y en la mayoría de investigaciones revisadas, se coincide con Huarino (119) que; a mayor concentración del extracto mayores halos de inhibición, así mismo los halos de inhibición que se hallaron para *S. mutans* fue 21.6 mm y 20.73 mm para *S. sanguis*, este efecto antibacteriano fue superior a los halos de inhibición formados por el control positivo (0.12% Clorhexidina).

Esta investigación confirma la alta actividad antibacteriana del *Equisetum Arvense* (cola de caballo) sobre *Porphyromona gingivalis*, además señala la concentración óptima que se puede utilizar. Lo encontrado, abre diversas posibilidades de investigaciones futuras; en las cuales, se puedan evaluar el efecto de esta planta en diferentes tiempos para ver la estabilidad del mismo, además observar qué tipo de efecto antibacteriano tiene sobre estas bacterias puesto que es de suma importancia no dañar biofilm, que como sabemos tiene un efecto protector sobre el huésped; para así continuar con estudios que permitan conducir a la innovación con el desarrollo de un nuevo producto como agente antibacteriano, con mejores efectos, menor costo gracias a la ventaja productiva de esta planta en nuestro país y con la seguridad de no causar daño a la salud de población.

CONCLUSIONES

- El extracto etanólico de *E. Arvense* si presenta efecto antibacteriano sobre la *P. gingivalis*. Según la escala de Duraffourd el extracto es muy sensible (++) desde un volumen de 15 μ L al 100% con un halo de inhibición de 15,238 mm hasta 30 μ L al 100% con un halo de inhibición de 19,070 mm. Observándose una relación directamente proporcional entre el volumen/concentración y el efecto antibacteriano.
- El extracto etanólico de **15 μ L** de *E. arvense* al 25%, 50%, 75% presenta leve efecto antibacteriano sobre la *P. gingivalis*, sin embargo, al 100% el efecto aumenta considerablemente. Según la escala de Duraffourd el extracto al 25% y 50% presenta sensibilidad límite (+) con halos inhibitorios de 13,214 mm y 13,722 mm respectivamente, mientras que al 75% y 100% es muy sensible (++) con un halo inhibitorio de 15,238 mm.
- El extracto etanólico de **20 μ L** de *E. arvense* al 25%, 50%, 75% y 100% presenta efecto antibacteriano sobre la *P. gingivalis*. Según la escala de Duraffourd el extracto es muy sensible (++) en sus cuatro concentraciones, cuyos halos de inhibición son de 15,974 mm, 15,792 mm, 16,164 mm y 16,942 mm respectivamente.
- El extracto etanólico de **25 μ L** de *E. arvense* al 25%, 50%, 75% y 100% presenta efecto antibacteriano sobre la *P. gingivalis*. Según la escala de Duraffourd el extracto es muy sensible (++) en sus cuatro concentraciones, cuyos halos de inhibición son de 16,978 mm, 17,384 mm, 17,912 mm y 18,984 mm respectivamente.

- El extracto etanólico de **30 µL** de *E. arvense* al 25%, 50%, 75% y 100% presenta efecto antibacteriano sobre la *P. gingivalis*. Según la escala de Duraffourd el extracto es muy sensible (++) en sus cuatro concentraciones, cuyos halos de inhibición son de 18,250 mm, 18,032 mm, 18,382 mm y 19,070 mm respectivamente.
- Comparando el efecto antibacteriano sobre la *P. gingivalis* entre el extracto etanólico de *E. arvense* (Cola de caballo) con el Gluconato de Clorhexidina 0,12% el resultado fue que, el extracto etanólico desde 25 µL al 50% hasta 30 µL al 100% tuvieron mayor efecto antibacteriano que el Gluconato de Clorhexidina 0,12%, donde los halos de inhibición de los extractos fueron de 17,364 mm y 19,070 mm respectivamente, superando de esa manera al Gold estándar que obtuvo 17,26 mm.

RECOMENDACIONES

1. Se recomienda formular productos odontológicos como (pastas, colutorios, gel, etc.) incluyendo al *Equisetum arvense* (Cola de caballo) como uno de sus componentes.
2. Continuar con la línea de investigación realizando estudios in vitro del *Equisetum arvense* (Cola de caballo) u otras especies botánicas para comprobar su efectividad antibacteriana en patógenos de la cavidad oral.
3. Realizar más estudios in vitro empleando otras cepas bacterianas o biofilms multi-especies para así ampliar el espectro farmacológico de una determinada planta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. G21_10Alfonso_Aparicio_Mena.pdf [Internet]. [citado 4 de diciembre de 2019]. Disponible en: http://www.ugr.es/~pwlac/G21_10Alfonso_Aparicio_Mena.pdf
2. Olortegui-Mariño R. Alternative, traditional, or complementary medicine: A perspective of intercultural therapeutic adherence. *Medwave*. 29 de junio de 2017;17(05):e6976-e6976.
3. Rojas Rojas T, Bourdy G, Ruiz E, Cerapio J-P, Pineau P, Gardon J, et al. Herbal Medicine Practices of Patients With Liver Cancer in Peru: A Comprehensive Study Toward Integrative Cancer Management. *Integr Cancer Ther*. 8 de diciembre de 2016;17(1):52-64.
4. Cola de Caballo.pdf [Internet]. [citado 1 de septiembre de 2019]. Disponible en: <http://www.inkaplus.com/media/web/pdf/Cola%20de%20Caballo.pdf>
5. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Clin Periodontol*. 2018;45(S20):S162-70.
6. Kassebaum NJ, Smith AGC, Bernabé E, Fleming TD, Reynolds AE, Vos T, et al. Global, Regional, and National Prevalence, Incidence, and Disability-Adjusted Life Years for Oral Conditions for 195 Countries, 1990–2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors. *J Dent Res*. 1 de abril de 2017;96(4):380-7.
7. Bicentenario P. Las diez enfermedades que más afectan a los peruanos pobres [Internet]. Perú Bicentenario | 200 años de Independencia. 2018 [citado 3 de diciembre de 2020]. Disponible en: <https://perubicentenario.pe/actualidad/salud/las-diez-enfermedades-que-mas-afectan-a-los-peruanos-pobres/>
8. Apaza M, Maribel Y. Estudio Epidemiológico de las enfermedades bucales mas prevalentes en escolares de 6 a 16 años de la Provincia de Lampa, 2013. *Univ Nac Altiplano* [Internet]. 2015 [citado 13 de septiembre de 2019]; Disponible en: <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/2638>
9. Vásquez MP. PREVALENCIA Y NECESIDAD DE TRATAMIENTO PERIODONTAL EN ESCOLARES DE LA INSTITUCIÓN EDUCATIVA “ANDRÉS BELLO. *Rev KIRU* [Internet]. 30 de noviembre de 2015 [citado 13 de septiembre de 2019];6(1). Disponible en: <https://www.aulavirtualusmp.pe/ojs/index.php/Rev-Kiru0/article/view/341>

10. Baehni P, Tonetti MS, On behalf of Group 1 of the European Workshop on Periodontology. Conclusions and consensus statements on periodontal health, policy and education in Europe: a call for action - consensus view 1. *Eur J Dent Educ.* mayo de 2010;14:2-3.
11. De Geest S, Laleman I, Teughels W, Dekeyser C, Quirynen M. Periodontal diseases as a source of halitosis: a review of the evidence and treatment approaches for dentists and dental hygienists. *Periodontol 2000.* junio de 2016;71(1):213-27.
12. Hujoel PP, Lingström P. Nutrition, dental caries and periodontal disease: a narrative review. *J Clin Periodontol.* 2017;44(S18):S79-84.
13. Pindborg JJ, Bhat M, Roed-Petersen B. Oral Changes in South Indian Children with Severe Protein Deficiency with Special Reference to Periodontal Conditions. *J Periodontol.* mayo de 1967;38(3):218-21.
14. Vedin O, Hagström E, Gallup D, Neely ML, Stewart R, Koenig W, et al. Periodontal disease in patients with chronic coronary heart disease: Prevalence and association with cardiovascular risk factors. *Eur J Prev Cardiol.* junio de 2015;22(6):771-8.
15. Martínez ACM, Llerena ME, Peñaherrera MS. Prevalencia de enfermedad periodontal y factores de riesgo asociados. *Dominio Las Cienc.* 2017;3(1):99-108.
16. Ziukaite L, Slot D, Loos B, Coucke W, Van der Weijden G. Family history of periodontal disease and prevalence of smoking status among adult periodontitis patients: a cross-sectional study. *Int J Dent Hyg.* noviembre de 2017;15(4):e28-34.
17. Quezada Carrera JC, Sacsquispe Contreras S, Gutiérrez Ventura F, Del Castillo López C, López Pinedo M. Enfermedad periodontal en pacientes diabéticos tipo 2 con y sin obesidad en Lima, Perú. *Rev Estomatológica Hered.* 24 de febrero de 2016;25(4):278.
18. Nazir MA. Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention. *Int J Health Sci.* 2017;11(2):72-80.
19. Kornman KS. Mapping the Pathogenesis of Periodontitis: A New Look. *J Periodontol.* agosto de 2008;79(8s):1560-8.
20. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol 2000.* junio de 2005;38(1):135-87.
21. Rylev M, Kilian M. Prevalence and distribution of principal periodontal pathogens worldwide. *J Clin Periodontol.* septiembre de 2008;35:346-61.

22. Orrego-Cardozo M, Parra-Gil MA, Salgado-Morales YP, Muñoz-Guarín E, Fandiño-Henao V. *Porphyromonas gingivalis* and systemic diseases. *CES Odontol.* junio de 2015;28(1):57-73.
23. Collins JR, Arredondo A, Roa A, Valdez Y, León R, Blanc V. Periodontal pathogens and tetracycline resistance genes in subgingival biofilm of periodontally healthy and diseased Dominican adults. *Clin Oral Investig.* marzo de 2016;20(2):349-56.
24. Medicina Tradicional [Internet]. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. [citado 13 de septiembre de 2019]. Disponible en: <http://web.ins.gob.pe/es/salud-intercultural/medicina-tradicional>
25. Al-Snafi A. The pharmacology of *Equisetum arvense*-A review. *IOSR J Pharm.* 1 de marzo de 2017;7(2):31-42.
26. Medina Bernal M. Determinación del efecto Antimicrobiano in Vitro del Extracto de *Equisetum giganteum* L. (Cola de Caballo) sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*, Arequipa-2015. 2016.
27. Calsin Huayta YM. Actividad antimicrobiana “In vitro” del aceite esencial y extracto etanólico de *Equisetum arvense* “cola de caballo” frente a *Escherichia coli* y *Candida albicans* uropatógenas. 2017.
28. Caceres Lupaca K. Efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Equisetum arvense* (cola de caballo) sobre el *Streptococcus mutans*, Puno – 2018. *Univ Nac Altiplano* [Internet]. 31 de diciembre de 2018 [citado 8 de junio de 2019]; Disponible en: <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/9628>
29. Jiménez JS. Plantas medicinales de la Sierra Central de Piura: Chalaco, Pacaypampa y Santo Domingo. *Espac Desarro.* 3 de febrero de 1995;(7):43-92.
30. Sandhu NS, Kaur S, Chopra D. *Equisetum Arvense*: Pharmacology and Phytochemistry - A review. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research.* 2010;3(3):146-50.
31. Bussmann RW, Sharon D. Plantas medicinales de los Andes y la Amazonía - La flora mágica y medicinal del Norte del Perú. *Ethnobot Res Appl* [Internet]. 1 de diciembre de 2018 [citado 24 de junio de 2020];15. Disponible en: <http://journals.sfu.ca/era/index.php/era/article/view/1281>
32. Holzhüter G, Narayanan K, Gerber T. Structure of silica in *Equisetum arvense*. *Anal Bioanal Chem.* 1 de junio de 2003;376(4):512-7.
33. Sola-Rabada A, Rinck J, Belton DJ, Powell AK, Perry CC. Isolation of a wide range of minerals from a thermally treated plant: *Equisetum arvense*, a Mare’s tale. *JBIC J Biol Inorg Chem.* marzo de 2016;21(1):101-12.

34. Budzianowski J. Coumarins, Caffeoyltartaric Acids and their Artificial Methyl Esters from *Taraxacum officinale* Leaves. *Planta Med.* junio de 1997;63(03):288-288.
35. Veit M, Strack D, Czygan F-C, Wray V, Witte L. Di-E-caffeoyl-meso-tartaric acid in the barren sprouts of *Equisetum arvense*. *Phytochemistry.* enero de 1991;30(2):527-9.
36. Fleming T, editor. PDR for herbal medicines [Internet]. 2., rev. ed. Montvale, N.J: Medical Economics Company; 2000. 409 p. Disponible en: http://naturalingredient.org/wp/wp-content/uploads/Pdr_for_Herbal_Medicines.pdf
37. Veit M, Weidner C, Strack D, Wray V, Witte L, Czygan F-C. The distribution of caffeic acid conjugates in the equisetaceae and some ferns. *Phytochemistry.* octubre de 1992;31(10):3483-5.
38. Veit M, Bauer K, Geiger H, Czygan F-C. Flavonoids of *Equisetum* Hybrids in the Subgenus *Equisetum*. *Planta Med.* diciembre de 1992;58(1):697.
39. Oh H, Kim D-H, Cho J-H, Kim Y-C. Hepatoprotective and free radical scavenging activities of phenolic petrosins and flavonoids isolated from *Equisetum arvense*. *J Ethnopharmacol.* diciembre de 2004;95(2-3):421-4.
40. Do Monte FHM, dos Santos JG, Russi M, Bispo Lanziotti VMN, Leal LKAM, de Andrade Cunha GM. Antinociceptive and anti-inflammatory properties of the hydroalcoholic extract of stems from *Equisetum arvense* L. in mice. *Pharmacol Res.* marzo de 2004;49(3):239-43.
41. Pietta P, Mauri P, Bruno A, Rava A, Manera E, Ceva P. Identification of flavonoids from *Ginkgo biloba* L., *Anthemis nobilis* L. and *Equisetum arvense* L. by high-performance liquid chromatography with diode-array UV detection. *J Chromatogr A.* agosto de 1991;553:223-31.
42. Suzuki K, Homma T. Isolation and chemical structure of flavonoids from the horsetails (*Equisetum Arvense* L.). *J Adv Sci.* 1997;9(1/2):104-5.
43. Sandhu NS, Kaur S, Chopra D. Pharmacognostic evaluation of *Equisetum arvense* Linn. *Int J PharmTech Res.* 1 de abril de 2010;2(2):1460-4.
44. Briskin DP. Medicinal Plants and Phytomedicines. Linking Plant Biochemistry and Physiology to Human Health. *Plant Physiol.* 1 de octubre de 2000;124(2):507-14.
45. Asgarpanah J, Roohi E. Phytochemistry and pharmacological properties of *Equisetum arvense* L. *J Med Plants Res.* 9 de junio de 2012;6(21):3689-93.

46. Veit M, Geiger H, Kast B, Beckert C, Horn C, Markham KR, et al. Styrylpyrone glucosides from Equisetum. *Phytochemistry*. julio de 1995;39(4):915-7.
47. Beckert C, Horn C, Schnitzler J-P, Lehning A, Heller W, Veit M. Styrylpyrone biosynthesis in Equisetum arvense. *Phytochemistry*. enero de 1997;44(2):275-83.
48. Veit M, Geiger H, Wray V, Abou-Mandour A, Rozdzinski W, Witte L, et al. Equisetumpyrone, a styrylpyrone glucoside in gametophytes from Equisetum arvense. *Phytochemistry*. marzo de 1993;32(4):1029-32.
49. Ganeva Y, Chanev C, Dentchev T. Triterpenoids and Sterols from Equisetum arvense. *Comptes Rendus Acad Bulg Sci*. 1 de enero de 2001;54(2):53-6.
50. Cetojević-Simin DD, Čanadanović-Brunet JM, Bogdanović GM, Djilas SM, Cetković GS, Tumbas VT, et al. Antioxidative and antiproliferative activities of different horsetail (Equisetum arvense L.) extracts. *J Med Food*. abril de 2010;13(2):452-9.
51. Guilherme J, Hoffmann F, Marcela M, do Nascimento V, Damasseno F, de Almeida Leal L. Cognitive enhancement in aged rats after chronic administration of L. with demonstrated antioxidant properties in vitro. *Pharmacol Biochem Behav*. julio de 2005;81(3):593-600.
52. Takatsuto S, Abe H. Sterol Composition of the Strobilus of Equisetum arvense L. *Biosci Biotechnol Biochem*. enero de 1992;56(5):834-5.
53. Řezanka T. Branched and very long-chain dicarboxylic acids from Equisetum species. *Phytochemistry*. abril de 1998;47(8):1539-43.
57. Gua J, Jin Y-S, Han W, Shim T-H, Sa J-H, Wang M-H. Studies for Component Analysis, Antioxidative Activity and α -glucosidase Inhibitory Activity from Equisetum arvense. *Appl Biol Chem*. 2006;49(1):77-81.
55. Myagmar B-E, Aniya Y. Free radical scavenging action of medicinal herbs from Mongolia. *Phytomedicine*. junio de 2000;7(3):221-9.
56. Nagai T, Myoda T, Nagashima T. Antioxidative activities of water extract and ethanol extract from field horsetail (tsukushi) Equisetum arvense L. *Food Chem*. julio de 2005;91(3):389-94.
57. Milovanović V, Radulović N, Todorović Z, Stanković M, Stojanović G. Antioxidant, Antimicrobial and Genotoxicity Screening of Hydro-alcoholic Extracts of Five Serbian Equisetum Species. *Plant Foods Hum Nutr*. 10 de septiembre de 2007;62(3):113-9.
58. Štajner D, Popović BM, Čanadanović-Brunet J, Anačkov G. Exploring Equisetum arvense L., Equisetum ramosissimum L. and Equisetum telmateia

- L. as sources of natural antioxidants. *Phytother Res.* abril de 2009;23(4):546-50.
59. Huh MK, Han M-D. Inhibitory effect of Hyaluronidase and DDPH radical scavenging activity using extraction of *Equisetum arvense*. *Eur J Adv Res Biol Life Sci.* 2015;3(2):47-51.
60. Heisey RM, Gorham BK. Antimicrobial effects of plant extracts on *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, *Trichophyton rubrum* and other micro-organisms. *Lett Appl Microbiol.* abril de 1992;14(4):136-9.
61. Radulović N, Stojanović G, Palić R. Composition and antimicrobial activity of *Equisetum arvense* L. essential oil. *Phytother Res.* enero de 2006;20(1):85-8.
62. Bessa Pereira C, Gomes PS, Costa-Rodrigues J, Almeida Palmas R, Vieira L, Ferraz MP, et al. *Equisetum arvense* hydromethanolic extracts in bone tissue regeneration: in vitro osteoblastic modulation and antibacterial activity. *Cell Prolif.* agosto de 2012;45(4):386-96.
63. Wojnicz D, Kucharska AZ, Sokół-Łętowska A, Kicia M, Tichaczek-Goska D. Medicinal plants extracts affect virulence factors expression and biofilm formation by the uropathogenic *Escherichia coli*. *Urol Res.* diciembre de 2012;40(6):683-97.
64. Garcia D, Ramos AJ, Sanchis V, Marín S. *Equisetum arvense* hydro-alcoholic extract: phenolic composition and antifungal and antimycotoxigenic effect against *Aspergillus flavus* and *Fusarium verticillioides* in stored maize: *Equisetum arvense* hydro-alcoholic extract. *J Sci Food Agric.* julio de 2013;93(9):2248-53.
65. Mekhfi H, Haouari ME, Legssyer A, Bnouham M, Aziz M, Atmani F, et al. Platelet anti-aggregant property of some Moroccan medicinal plants. *J Ethnopharmacol.* octubre de 2004;94(2-3):317-22.
66. Goun EA, Petrichenko VM, Solodnikov SU, Suhinina TV, Kline MA, Cunningham G, et al. Anticancer and antithrombin activity of Russian plants. *J Ethnopharmacol.* agosto de 2002;81(3):337-42.
67. Alexandru V, Petrusca D, Gille E. Investigation of pro-apoptotic activity of *Equisetum arvense* L. water extract on human leukemia U 937 cells. *Romanian Biotechnol Lett.* 1 de marzo de 2007;12(2):3139-47.
68. Mohammed HIA, Paray BA, Rather IA. Anticancer activity of EA1 extracted from *Equisetum arvense*. *Pak J Pharm Sci.* 2017;30(5 (Supplementary)):1947-50.

69. Sakurai N, Iizuka T, Nakayama S, Funayama H, Noguchi M, Nagai M. Vasorelaxant Activity of Caffeic Acid Derivatives from *Cichorium intybus* and *Equisetum arvense*. *YAKUGAKU ZASSHI*. 2003;123(7):593-8.
70. Ferraz MP, Pereira AC, Lopes MA, Fernandes MH. *Equisetum arvense*: Avaliação das possibilidades de aplicação na regeneração óssea. *Rev Fac Ciênc Saúd*. 2008;5:136-45.
71. Bye R, Thingstad SF, Paulsen BS. Horsetail (*Equisetum* spp.) as a Source of Silicon Supplement in Human Nutrition—A Myth? *J Herbs Spices Med Plants*. 20 de septiembre de 2010;16(2):119-25.
72. Law C, Exley C. New insight into silica deposition in horsetail (*Equisetum arvense*). *BMC Plant Biol*. 2011;11(1):112.
73. Gründemann C, Lengen K, Sauer B, Garcia-Käufer M, Zehl M, Huber R. *Equisetum arvense* (common horsetail) modulates the function of inflammatory immunocompetent cells. *BMC Complement Altern Med*. diciembre de 2014;14(1):283.
74. Saeed B.Q., Hassan B.H., Arteen H.I. Effect of Some Medical Plant Extracts on Metabolism of *Leishmania tropica* Promastigotes In vitro. *J Med Microbiol Diagn*. 2014;3(4):4.
75. Dos Santos JG, Blanco MM, Do Monte FHM, Russi M, Lanziotti VMNB, Leal LKAM, et al. Sedative and anticonvulsant effects of hydroalcoholic extract of *Equisetum arvense*. *Fitoterapia*. septiembre de 2005;76(6):508-13.
76. Rezaie A, Mousavi G, Nazeri M, Jafari B, Ebadi A, Ahmadeh C, et al. Comparative Study of Sedative, Pre-Anesthetic and Anti-Anxiety Effect of *Origanum majorana* Extract with Diazepam on Rats. *Res J Biol Sci*. 1 de noviembre de 2011;6(11):611-4.
77. Safiyeh S, Fathallah F, Vahid N, Hossine H, Habib S. Antidiabetic effect of *Equisetum arvense* L. (*Equisetaceae*) in streptozotocin-induced diabetes in male rats. *Pak J Biol Sci PJBS*. 1 de mayo de 2007;10(10):1661-6.
78. Oka M, Tachibana M, Noda K, Inoue N, Tanaka M, Kuwabara K. Relevance of anti-reactive oxygen species activity to anti-inflammatory activity of components of Eviprostat®, a phytotherapeutic agent for benign prostatic hyperplasia. *Phytomedicine*. agosto de 2007;14(7-8):465-72.
79. Tamaki M, Nakashima M, Nishiyama R, Ikeda H, Hiura 勝, Kanaoka T, et al. [Assessment of Clinical Usefulness of Eviprostat for Benign Prostatic Hyperplasia--Comparison of Eviprostat Tablet With a Formulation Containing Two-Times More Active Ingredients]. *Hinyokika Kyo*. junio de 2008;54(6):435-45.

80. Ozay Y, Ozyurt S, Guzel S, Cimbiz A, Olgun EG, Cayci MK. Effects of Equisetum arvense ointment on dermal wound healing in rats. Wounds Compend Clin Res Pract. octubre de 2010;22(10):261-7.
81. Hayat A, Temamogullari F, Yilmaz R, Karabulut O. Effect of Equisetum arvense on wound contraction of full-thickness skin wounds in rabbits. J Anim Vet Adv. 1 de enero de 2011;10(1):81-3.
82. Ozay Y, Kasim Cayci M, Guzel-Ozay S, Cimbiz A, Gurlek-Olgun E, Sabri Ozyurt M. Effects of Equisetum arvense Ointment on Diabetic Wound Healing in Rats. Wounds Compend Clin Res Pract. septiembre de 2013;25(9):234-41.
83. Kotwal SD, Badole SR. Anabolic therapy with Equisetum arvense along with bone mineralising nutrients in ovariectomized rat model of osteoporosis. Indian J Pharmacol. 1 de mayo de 2016;48(3):312-5.
84. Grases F, Melero G, Costa-Bauzá A, Prieto R, March JG. Urolithiasis and phytotherapy. Int Urol Nephrol. septiembre de 1994;26(5):507-11.
85. Crescenti A, Puiggròs F, Colomé A, Poch JA, Caimari A, Bas JM del, et al. Efecto antiurolitiásico de una formulación de las plantas Herniaria glabra, Agropyron repens, Equisetum arvense y Sambucus nigra (Herbensurina®) en un modelo experimental de nefrolitiasis en ratas. Arch Esp Urol Ed Impr. 2015;68(10):739-49.
86. Zhang H, Li N, Li K, Li P. Effect of ethanol root extract of Equisetum arvense (L) on urinary bladder activity in rats and analysis of principal plant constituents. Trop J Pharm Res. 14 de septiembre de 2015;14(8):1451-8.
87. Rebuelta M, Fernandez M, Barrio L. Estudio del efecto diurético de Equisetum arvense L., Bidens aurea Aiton Sherff., Micromeria fruticosaL., Spargularia rubra L., Cynodon dactylon L. Anal Inst Bot Cavanilles. 1978;34(2):703-12.
88. opinion-hmpc-european-union-herbal-monograph-equisetum-arvense-l-herba_en.pdf [Internet]. [citado 6 de junio de 2020]. Disponible en: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-opinion/opinion-hmpc-european-union-herbal-monograph-equisetum-arvense-l-herba_en.pdf
89. horsetail-herb-summary-public_en.pdf [Internet]. [citado 6 de junio de 2020]. Disponible en: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-summary/horsetail-herb-summary-public_en.pdf
90. Cordova E, Morganti L, Rodriguez C. Possible Drug–Herb Interaction between Herbal Supplement Containing Horsetail (*Equisetum arvense*) and Antiretroviral Drugs: Report of 2 Cases. J Int Assoc Provid AIDS Care JIAPAC. enero de 2017;16(1):11-3.

91. Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman KS, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions – Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Clin Periodontol*. 2018;45(S20):S1-8.
92. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol 2000*. junio de 1997;14(1):9-11.
93. Haffajee AD, Patel M, Socransky SS. Microbiological changes associated with four different periodontal therapies for the treatment of chronic periodontitis. *Oral Microbiol Immunol*. abril de 2008;23(2):148-57.
94. Herrera D, Contreras A, Gamonal J, Oteo A, Jaramillo A, Silva N, et al. Subgingival microbial profiles in chronic periodontitis patients from Chile, Colombia and Spain: Geographic microbiological differences in periodontitis. *J Clin Periodontol*. 14 de diciembre de 2007;35(2):106-13.
95. Henderson B, Ward JM, Ready D. *Aggregatibacter* (*Actinobacillus*) *actinomycetemcomitans*: a triple A* periodontopathogen?: *Aggregatibacter* (*Actinobacillus*) *actinomycetemcomitans*. *Periodontol 2000*. 16 de agosto de 2010;54(1):78-105.
96. Pathirana RD, O'Brien-Simpson NM, Reynolds EC. Host immune responses to *Porphyromonas gingivalis* antigens: Immune responses to P.Â *gingivalis* antigens. *Periodontol 2000*. febrero de 2010;52(1):218-37.
97. Michalowicz BS, Aeppli D, Virag JG, Klump DG, Hinrichs E, Segal NL, et al. Periodontal Findings in Adult Twins. *J Periodontol*. mayo de 1991;62(5):293-9.
98. Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the Natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol*. febrero de 2004;2(2):95-108.
99. Cuenca J. Biofilms dentales: objetivos terapéuticos difíciles *PERIODONTOLOGY 2000 PERIODONTOLOGY 2000* (Ed Esp. [citado 14 de junio de 2020]; Disponible en: https://www.academia.edu/41604617/Biofilms_dentales_objetivos_terap%C3%A9uticos_dif%C3%ADciles_PERIODONTOLOGY_2000_PERIODONTOLOGY_2000_Ed_Esp
100. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*. febrero de 1998;25(2):134-44.

101. Lamont RJ, Jenkinson HF. Life Below the Gum Line: Pathogenic Mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1 de diciembre de 1998;62(4):1244-63.
102. Haraszthy VI, Zambon JJ, Trevisan M, Zeid M, Genco RJ. Identification of Periodontal Pathogens in Atheromatous Plaques. *J Periodontol.* octubre de 2000;71(10):1554-60.
103. Shah HN, Collins MD. Proposal To Restrict the Genus *Bacteroides* (Castellani and Chalmers) to *Bacteroides fragilis* and Closely Related Species. *Int J Syst Bacteriol.* 1 de enero de 1989;39(1):85-7.
104. Perfecto DR, Nakata HM, Cadillo EM. *Porphyromonas gingivalis*: patógeno predominante en la periodontitis crónica. *Odontol Sanmarquina.* 18 de julio de 2011;14(1):34-8.
105. Shah HN, Collins MD. Proposal for Reclassification of *Bacteroides asaccharolyticus*, *Bacteroides gingivalis*, and *Bacteroides endodontalis* in a New Genus, *Porphyromonas*. *Int J Syst Bacteriol.* 1 de enero de 1988;38(1):128-31.
106. Holt SC, Kesavalu L, Walker S, Genco CA. Virulence factors of *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol 2000.* junio de 1999;20(1):168-238.
107. Lamont RJ, Jenkinson HF. Life below the gum line: pathogenic mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiol Mol Biol Rev MMBR.* diciembre de 1998;62(4):1244-63.
108. Holt SC, Kesavalu L, Walker S, Genco CA. Virulence factors of *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol 2000.* junio de 1999;20:168-238.
109. Holt SC, Ebersole JL. *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*: the 'red complex', a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontol 2000.* 2005;38(1):72-122.
110. Holt SC, Ebersole JL. *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*: the «red complex», a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontol 2000.* junio de 2005;38(1):72-122.
111. Kuramitsu HK, Yoneda M, Madden T. Proteases and Collagenases of *Porphyromonas Gingivalis*. *Adv Dent Res.* febrero de 1995;9(1):37-40.
112. Kumagai Y, Konishi K, Gomi T, Yagishita H, Yajima A, Yoshikawa M. Enzymatic Properties of Dipeptidyl Aminopeptidase IV Produced by the Periodontal Pathogen *Porphyromonas gingivalis* and Its Participation in Virulence. Burns DL, editor. *Infect Immun.* 1 de febrero de 2000;68(2):716-24.

113. van Winkelhoff AJ, Loos BG, van der Reijden WA, van der Velden U. Porphyromonas gingivalis, Bacteroides forsythus and other putative periodontal pathogens in subjects with and without periodontal destruction. J Clin Periodontol. noviembre de 2002;29(11):1023-8.
114. Adhikari K, Saimbi CS, Gupta BP. Estimation of Transmission of Porphyromonas Gingivalis from Mother to Child through Saliva. J Nepal Med Assoc. 31 de agosto de 2018;56(212):781-6.
115. Petit MDA, Steenberg TJM, Graaff J, Velden U. Transmission of Actinobacillus actinomycetemcomitans in families of adult periodontitis patients. J Periodontal Res. septiembre de 1993;28(5):335-45.
116. Troil-Lindén B, Torkko H, Alaluusua S, Wolf J, Jousimies-Somer H, Asikainen S. Periodontal findings in spouses: A clinical, radiographic and microbiological study. J Clin Periodontol. 13 de diciembre de 2005;22(2):93-9.
117. Rindom Schiott C, Loe H, Borglum Jensen S, Kilian M, Davies RM, Glavind K. The effect of chlorhexidine mouthrinses on the human oral flora. J Periodontal Res. abril de 1970;5(2):84-9.
118. Case DE. Safety of Hibitane I. Laboratory experiments. J Clin Periodontol. diciembre de 1977;4(5):66-72.
119. Acho MH, Perfecto DR. Efecto antibacteriano de Caesalpinia spinosa (Tara) sobre flora salival mixta. Odontol Sanmarquina. 16 de julio de 2012;15(1):27-30.
120. Chipana AM, Perfecto DR. Actividad antibacteriana de Caesalpinia spinosa (tara) sobre Porphyromonas gingivalis. Odontol Sanmarquina. 18 de julio de 2016;19(1):7-11.
121. Dahanukar SA, Kulkarni RA, Rege NN. PHARMACOLOGY OF MEDICINAL PLANTS AND NATURAL PRODUCTS. :38.

ANEXOS

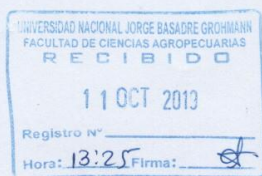
ANEXO 01. FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

PATÓGENO: <i>Porphyromona</i> <i>gingivalis</i> ATCC 33277	EXTRACTO ETANÓLICO – <i>E. Arvense</i>				CONTROL POSITIVO	
	VOLUMEN	CONCENTRACIÓN				G.C. 0,12%
		25%	50%	75%	100%	
PLACA 01	15 µL					
PLACA 02						
PLACA 03						
PLACA 04						
PLACA 05						
PLACA 01	20 µL					
PLACA 02						
PLACA 03						
PLACA 04						
PLACA 05						
PLACA 01	25 µL					
PLACA 02						
PLACA 03						
PLACA 04						
PLACA 05						
PLACA 01	30 µL					
PLACA 02						
PLACA 03						
PLACA 04						
PLACA 05						

ANEXO 02. RESULTADOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

PATÓGENO: <i>Porphyromona</i> <i>gingivalis</i> ATCC 33277	EXTRACTO ETANÓLICO – <i>E. Arvense</i>					CONTROL POSITIVO
	VOLUMEN	CONCENTRACIÓN				G.C. 0,12%
		25%	50%	75%	100%	
PLACA 01	15 µL	13,69	13,92	14,18	14,82	16,81
PLACA 02		13,90	13,62	14,57	15,64	16,21
PLACA 03		12,45	13,49	14,63	14,93	17,19
PLACA 04		12,69	13,81	14,98	15,21	16,55
PLACA 05		13,34	13,77	14,51	15,59	17,37
PLACA 01	20 µL	16,62	15,16	15,77	16,54	17,88
PLACA 02		15,33	14,98	15,67	17,04	18,11
PLACA 03		15,76	15,76	16,51	17,21	17,32
PLACA 04		15,84	16,61	16,34	16,81	17,41
PLACA 05		16,32	16,45	16,53	17,11	17,21
PLACA 01	25 µL	16,88	16,90	17,82	19,17	16,99
PLACA 02		17,25	18,06	18,32	19,71	17,42
PLACA 03		16,83	17,52	17,69	18,56	17,12
PLACA 04		17,01	17,23	18,42	18,54	17,46
PLACA 05		16,92	17,21	17,31	18,94	17,31
PLACA 01	30 µL	18,92	18,13	18,78	19,83	17,57
PLACA 02		17,59	17,94	18,48	19,71	18,83
PLACA 03		17,81	18,21	17,93	18,69	17,91
PLACA 04		18,31	18,07	17,91	18,41	17,83
PLACA 05		18,62	17,81	18,81	18,71	17,43

ANEXO 03. RESULTADOS DE ANÁLISIS TAXONÓMICO



**SOLICITO: TAXONOMIA DE ESPECIE
BOTANICA**

**SEÑOR
DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**


**Yo, ERIKA BLANCA CHOQUE
QUISPE**, identificada con DNI N° 73009694
con domicilio calle Belisario Suárez Mz. Q
Lt. 9 #940 del distrito de Alto de la Alianza.
Ante Ud. respetuosamente me presento y
expongo:

Que estando cursando el 5° año de la carrera
profesional de **ODONTOLOGIA** en la Universidad Privada de Tacna, solicito a Ud. un estudio
taxonómico sobre la “Cola de Caballo” para ejecutar trabajo de investigación **“EFECTO
ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ACUOSO DE EQUISETUM ARVENSE (COLA
DE CABALLO) SOBRE LA PORPHYROMONA GINGIVALIS ATCC 33277 – ESTUDIO
IN VITRO TACNA 2019”**.

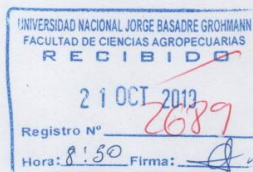
POR LO EXPUESTO:

Ruego a Usted acceder a mi solicitud.

Tacna, 11 de Octubre del 2019


ERIKA CHOQUE QUISPE
DNI N° 73009694

Tacna, 18 de octubre del 2019



Señor:

MSc. MAGNO ROBLES TELLO

Decano de la Facultad de Ciencias Agropecuarias

Presente.-

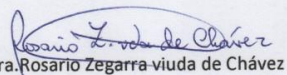
De mi consideración:

Tengo el agrado de dirigirme a Ud. para manifestarle con relación a la solicitud de la Srta. Erika Blanca Choque Quispe sobre un estudio taxonómico de Cola de Caballo para ejecutar el trabajo de investigación "EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ACUOSO DE Equisetum arvense "Cola de caballo" SOBRE LA Porphyromona gingivalis ATCC 33277- EN UN ESTUDIO IN VITRO, TACNA 2019".

Debo señalar, que acompaña al presente, la identificación, ubicación taxonómica y descripción de la especie señalada.


Sin más que informar al respecto, le saludo cordialmente.

Atentamente,


Dra. Rosario Zegarra-viuda de Chávez

Profesora Principal Facultad de Ciencias Agropecuarias

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS		21 OCT 2019
PROV. N°:	2689	FECHA:
A :	Interesado	
PARA :	Conocimiento y fines	
N° Folios	2	



Ubicación taxonómica de la especie

Reino : Plantae

División Sphenophyta

Clase : Equisetopsida

Orden : Equisetales

Familia : Equisetaceae

Género : Equisetum

Especie : Equisetum arvense L.

Nombre común : Cola de caballo

Descripción botánica de la especie

Planta herbácea con rizoma rastrero. Tallos dimorfos : Los tallos fértiles suculentos, no se ramifican, de color marrón rojizo o amarillo de 10-25 cm de altura, con hojas marrones. En el extremo se localizan los esporangios, en cuyo interior se encuentran las esporas.

Los tallos estériles de 10 -50 cm. de altura, de color verde, huecos, ramificados. En cada nudo se desarrolla una funda membranosa dentada de donde nacen ramas inclinadas o erguidas. Con la superficie rugosa por la presencia de sílice.

ANEXO 04. GALERÍA FOTOGRÁFICA



Figura 01. *Equisetum arvense* o “Cola de caballo”



Figura 02. Recolección de la muestra (Ilabaya)



Figura 03. Tamizado y secado del *Equisetum arvense* (Cola de caballo)



Figura 04. Filtrado del extracto etanólico en papel Whatmann N° 4.

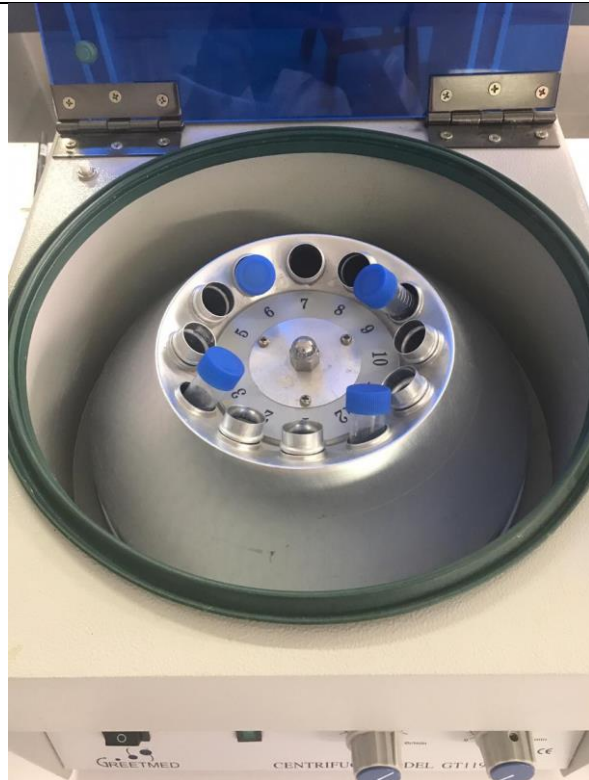


Figura 05. Centrifugado del extracto para separar el sedimento.

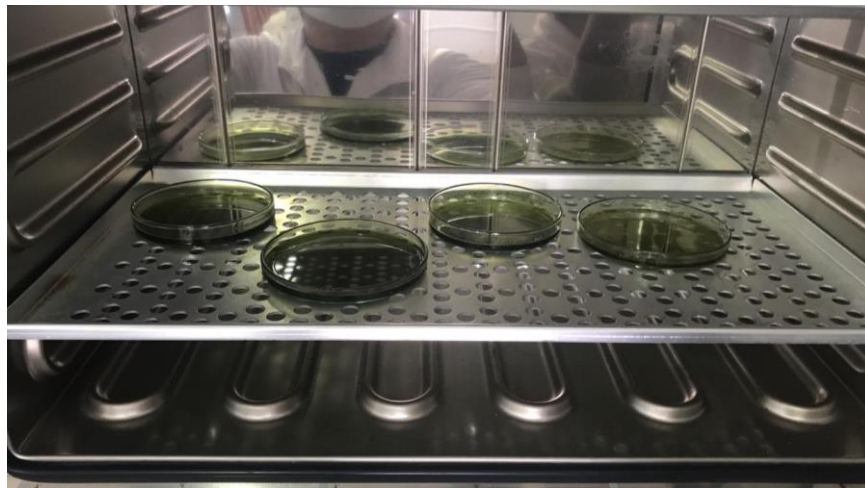


Figura 06. Secado de la primera mezcla con alcohol 70°.



Figura 07. Vórtex para homogeneizar mejor los extractos.



Figura 08. Obtención de extracto etanólico 25%, 50%, 75% y 100% y Gluconato de Clorhexidina 0,12%



Figura 09. Cepa bacteriana de *P. gingivalis* ATCC 33277

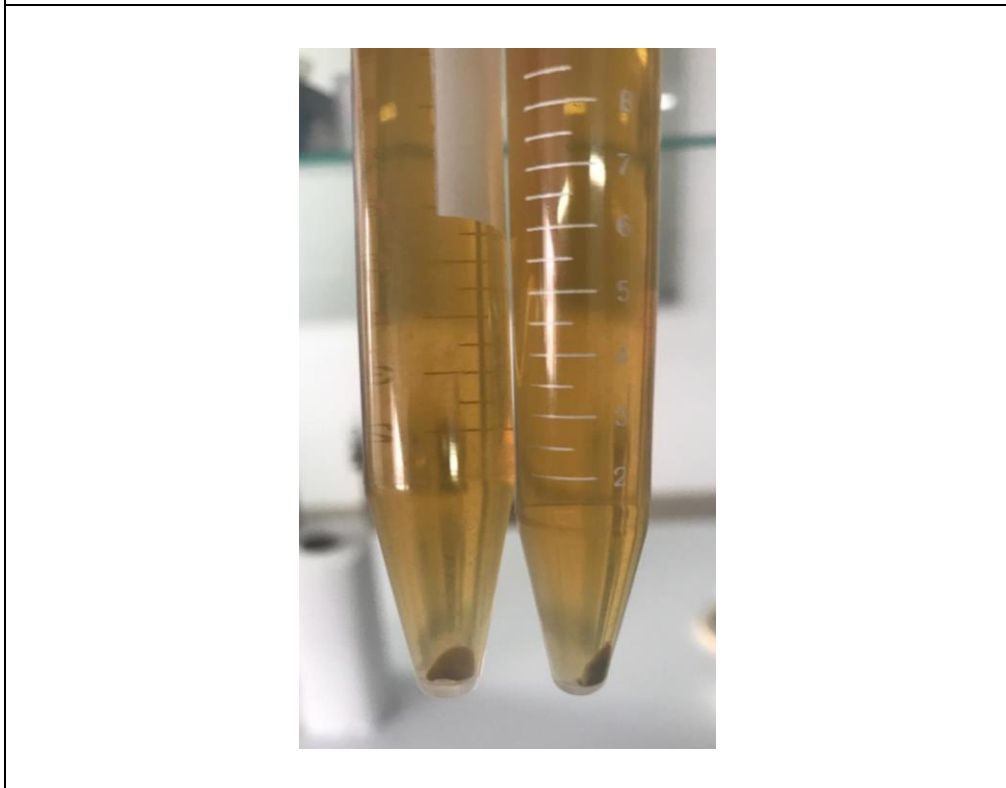


Figura 10. Inoculación bacteriana de la *P. gingivalis* ATCC 33277.

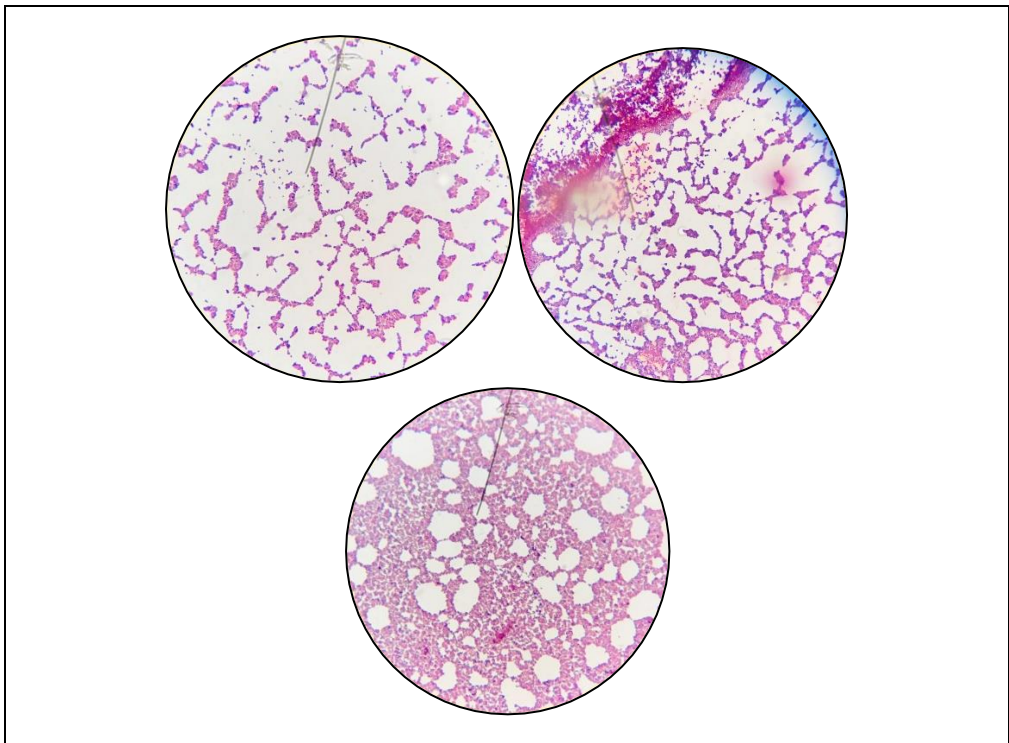


Figura 11. Vista microscópica del crecimiento bacteriano de la *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277



Figura 12. Tryptic Soy Agar (Agar) y Tryptic Soy Broth (Clado)

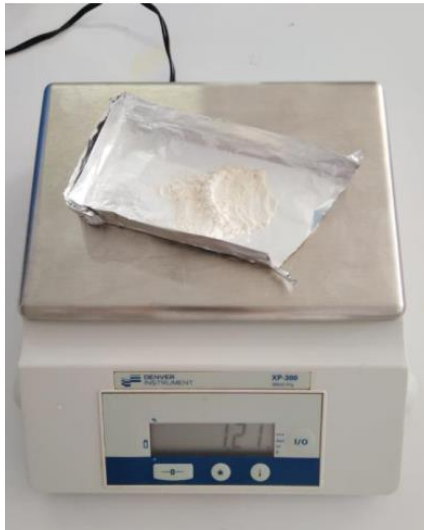


Figura 13. Preparación del caldo Tryptic Soy Broth para activar la bacteria.

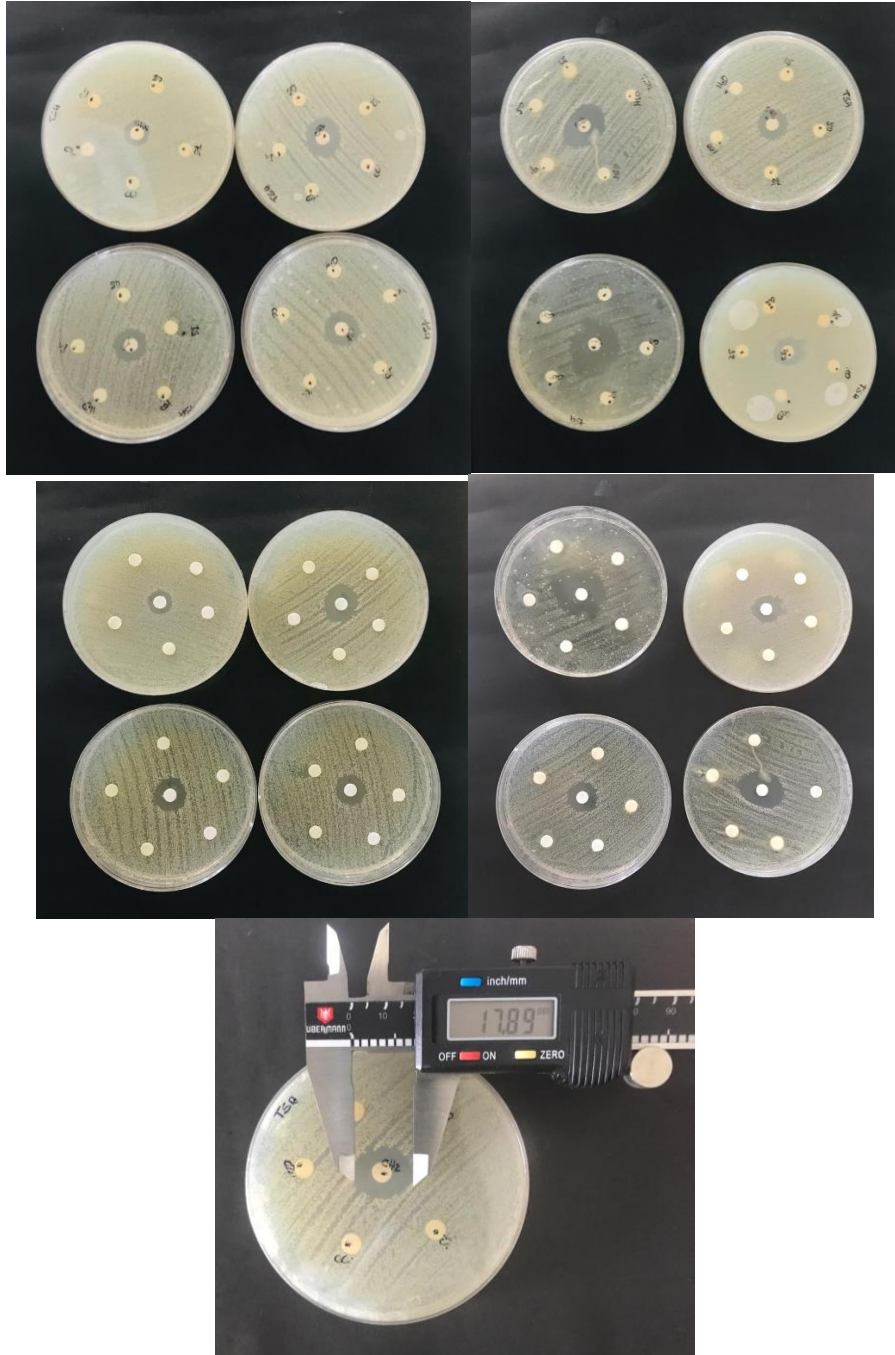


Figura 14. Halo representativo de la sensibilidad de la *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277 frente al extracto etanólico de *Equisetum arvense* y medición digital de los halos