UNIVERSIDAD SEÑOR DE SIPÁN

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA

TESIS

COMPARACIÓN ENTRE EL EFECTO DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE SEMILLAS DE *Caesalpinia spinosa* (TARA), HIPOCLORITO AL 5,25% Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2% EN LA DESINFECCIÓN *IN VITRO* DE CONOS DE GUTAPERCHA CONTAMINADOS CON *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

PARA OPTAR TÍTULO PROFESIONAL DE CIRUJANO DENTISTA

Autor:
Bach. Cuyan Milian Mary Elizabet

Asesor:
Mg. CD. Vásquez Plasencia César Abraham

Línea de Investigación:
Respuestas Biológicas en Terapias Estomatológicas

Pimentel – Perú
2019

“Comparación entre el efecto del extracto hidroetanólico de semillas de *caesalpinia spinosa* (tara), hipoclorito al 5,25% y gluconato de clorhexidina al 2% en la desinfección *in vitro* de conos de gutapercha contaminados con *enterococcus faecalis* atcc 29212”.

Aprobación del informe de investigación

Mg. CD. Vásquez Plasencia Cesar Abraham

Asesor Metodólogo

Dra. CD. Valenzuela Ramos Marisel Roxana

Presidente del jurado de tesis

CD. Ojeda Gómez Roberto Carlos

Secretario del jurado de tesis

Mg. CD. Romero Gamboa Julio Cesar

Vocal del jurado de tesis

DEDICATORIA

A mi padre, por su amor, sacrificio y trabajo en todos estos años quien ha velado y motivado para la culminación de mis estudios profesionales, mi profundo agradecimiento por todo su apoyo; a mis hermanos, por la confianza y los consejos brindados.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por haberme dado la vida y permitirme llegar a este momento tan importante en mi formación profesional.

A mi padre, por ser el pilar más importante y brindarme siempre su apoyo incondicional.

A la Universidad Señor de Sipán, por la buena formación profesional que me brindó.

Al Dr. Mblgo. Miguel Ángel Ruiz Barrueto, por su apoyo y oportunos consejos como asesor especialista en la ejecución de la presente tesis.

RESUMEN

Objetivo. Comparar el efecto entre el extracto hidroetanólico de semilla de *Caesalpinia spinosa* (tara), hipoclorito al 5,25% y gluconato de clorhexidina al 2% en la desinfección *in vitro* de conos de gutapercha contaminados con *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Método. Se utilizaron 90 conos de gutapercha esterilizados mediante radiación UV. Después fueron contaminados con *Enterococcus faecalis* para luego ser inmersas en soluciones desinfectantes que fueron Gluconato de clorhexidina al 2%, Hipoclorito de sodio al 5.25 % y a una concentración de extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 60%. El tiempo de inmersión fue de 3 minutos. Después, cada cono fue sembrado por dispersión en placas con agar Soya Tripticasa e incubado a 36.5°C durante 48 horas. Resultados. Se encontró que el hipoclorito de sodio tiene mayor efectividad antibacteriana sobre *Enterococcus faecalis*. Seguido de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 60% y gluconato de clorhexidina al 2% que tuvieron efecto antibacteriano semejante. Conclusión. Se concluye que el hipoclorito de sodio al 5.25 % fue la sustancia con mayor efecto antibacteriano sobre *Enterococcus faecalis* al eliminar su crecimiento en 100%. El extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 60% alcanzó semejante efecto antibacteriano que el observado en Gluconato de Clorhexidina al 2% por lo que podría ser utilizado como una sustancia desinfectante en conos de gutapercha, pero se sugieren más estudios.

Palabras Clave: Extracto vegetal, desinfección, *Caesalpinia spinosa*, gluconato de clorhexidina, hipoclorito de sodio, *Enterococcus faecalis*.

ABSTRACT

Objective. To compare the effect between the hydroetanolic extract of Caesalpinia spinosa (tara) seed, 5.25% hypochlorite and 2% chlorhexidine gluconate in the in vitro disinfection of gutta-percha cones contaminated with Enterococcus faecalis ATCC 29212. Method. 90 gutta-percha cones sterilized by UV radiation were used. They were then contaminated with Enterococcus faecalis and then immersed in disinfectant solutions that were 2% chlorhexidine gluconate, 5.25% sodium hypochlorite, and a concentration of hydroestanolic extract of Caesalpinia spinosa (tara) at 60%. The immersion time was 3 minutes. Afterwards, each cone was seeded by dispersion on plates with Soy Tripticase agar and incubated at 36.5 ° C for 48 hours. Results It was found that sodium hypochlorite has greater antibacterial effectiveness over Enterococcus faecalis. Followed by Caesalpinia spinosa (tara) at 60% and chlorhexidine gluconate at 2% that had similar antibacterial effect. Conclusion. It is concluded that 5.25% sodium hypochlorite was the substance with the highest antibacterial effect on Enterococcus faecalis, eliminating its growth in 100%. The hydroetanolic extract of Caesalpinia spinosa (tara) at 60% achieved similar antibacterial effect as observed in 2% Chlorhexidine Gluconate, so it could be used as a disinfectant in gutta-percha cones, but more studies are suggested.

Keywords: Plant extract, disinfection, *Caesalpinia spinosa*, chlorhexidine gluconate, sodium hypochlorite, *Enterococcus faecalis*.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN 7
1.1. Realidad Problemática. 7
1.2. Trabajos previos. 8
1.3. Teorías relacionadas al tema. 11
1.4. Formulación del Problema 24
1.5. Justificación e importancia del estudio. 24
1.6. Hipótesis. 25
1.7. Objetivos. 26
1.7.1. Objetivo General 26
1.7.2. Objetivos Específicos 26
II. MATERIAL Y MÉTODOS 27
2.1. Tipo y Diseño de Investigación. 27
2.2. Población y muestra. 27
2.3. Variables, Operacionalización. 29
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad. 30
2.5. Procedimientos de análisis de datos. 32
2.6. Criterios éticos. 32
2.7. Criterios de Rigor Científicos 32
III. RESULTADOS 33
3.1. Tablas y Figuras 33
3.2. Discusión de resultados 35
IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 38
4.1. Conclusiones 38
4.2. Recomendaciones 38
REFERENCIAS 39
ANEXOS 42

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Realidad Problemática.

El éxito del tratamiento endodóntico, se basa en una correcta desinfección, preparación y obturación de los conductos radiculares con el objetivo de eliminar microorganismos causantes de infecciones pulpares o periapicales, siendo el cono de gutapercha el material de elección para la obturación de estos conductos, debido a su alta biocompatibilidad, estabilidad dimensional, termo plasticidad y su fácil manipulación.[1]

A nivel mundial diversas investigaciones reportan que los conos de gutapercha no pueden ser esterilizados por medios habituales como el calor húmedo o seco, debido a que sus propiedades estructurales se verían afectadas, es por ello que diferentes compuestos químicos están siendo utilizados en el proceso de esterilización de materiales sensibles a la temperatura, siendo los más comunes; el Hipoclorito de sodio al 5,25% y el Gluconato de Clorhexidina 2% los cuales también son empleados como irrigantes intraconducto en la práctica clínica debido a sus altos valores de eficacia antimicrobiana, sin embargo, existen otros de uso no clínico como los productos naturales derivados de la planta *Caesalpina espinosa*, comúnmente conocida como "tara".

A nivel de Sudamérica muchas investigaciones han demostrado que compuestos obtenidos a partir de esta planta tienen capacidad antimicrobiana, y otros son utilizados como coadyuvantes para un mejor resultado.[2] En países como Perú, el número de tratamientos endodónticos ha crecido de forma exponencial en los últimos años, la población en general prefiere un tratamiento de conducto antes de la extracción dental. Aun así nos enfrentamos a un alto grado de fracasos por múltiples causas, entre las que destaca la bacteriana. Se ha demostrado que la bacteria predominante asociada al fracaso en el tratamiento endodóntico es Enterococcus *faecalis*.

Teniendo en cuenta la importancia de *E. faecalis* en el fracaso del tratamiento endodóntico y desconociéndose el efecto que puedan tener sobre su viabilidad los compuestos bioactivos derivados de las semillas de esta planta, la presente investigación busca determinar su capacidad desinfectante en comparación a la de productos químicos como el hipoclorito de sodio y la clorhexidina.[3]

1.2. Trabajos previos.

Challco A[4] en 2017, Perú. Determino la efectividad del alcohol Isopropílico, Hipoclorito de sodio, Acido Paracético y Clorhexidina en la desinfección de conos de gutapercha expuestos a *Enterococcus Faecalis.* Se utilizaron 144 conos de gutapercha número 80, el periodo de inmersión para cada compuesto químico fue de 15 segundos, 30 segundos, 1 y 5 minutos. Los conos de gutapercha fueron contaminados con *Enterococcus faecalis* y luego inmersos en cada compuesto químico. Después, cada cono fue puesto dentro de un tubo estéril que contenía caldo Brain Heart Infusión e incubado a 37°C por 48 horas. Los resultados mostraron que el Ácido Paracético 1% y la Clorhexidina 2% tienen mejores valores de eficacia antibacteriana en todos los tiempos de exposición. La actividad antibacteriana se observó al 1 y 5 minutos en Hipoclorito de Sodio al 5,25% y Alcohol Isopropílico de 70° respectivamente. Se concluye que el Ácido Paracético 1% y la Clorhexidina 2% fueron los más efectivos en la desinfección de conos de gutapercha en los diferentes tiempos de exposición disminuyendo la viabilidad del *E. faecalis* en un 90% aproximadamente.

Cevallos G[5] en 2017, Ecuador. Determinó la utilización del propóleo ecuatoriano de la región Costa y Sierra al 50%, comparándolos con el gluconato de clorhexidina al 2% e hipoclorito de sodio al 1% en la inhibición de la cepa *Enterococcus faecalis*. La muestra la constituyeron 70 repeticiones del ensayo y se dividió en 5 grupos cada uno: dos grupos con extracto hidroalcohólico de propóleo ecuatoriano al 50% siendo: G1 propóleo de la región Costa, G2 propóleo de la región Sierra, G3 gluconato de clorhexidina al 2 %, G4 hipoclorito de sodio al 1 %, G5 control. El medio de cultivo fue Müller Hinton más 2% de sangre. Posteriormente se preparó una solución de *E. faecalis* al 0,5 McFarland, que se inoculó por siembra en superficie en cajas de agar a los que se colocó discos de papel impregnados en las soluciones investigadas, se incubó durante 48 horas y se medió el halo de inhibición. Se aplicó la prueba Kruskal-Wallis con un nivel de significancia del 5%. Se concluye que el efecto inhibidor del propóleo ecuatoriano registró halos de inhibición sobre el *Enterococcus faecalis* bastante bajos y muy por debajo del gluconato de clorhexidina al 2% e hipoclorito de sodio al 1%.

Flores A[6] en 2016, Perú. Determinó el efecto inhibidor in vitro del extracto etanólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* (tara) frente a cepas *Enterococcus faecalis.* Las cepas de E. faecalis fueron sembradas en placas que contenían medio de cultivo Mueller Hinton, se colocaron discos con diferentes concentraciones del extracto etanólico de tara. Las placas se incubaron a 37° midiéndose los halos con una regla vernier después de 24 horas, se empleó también el método de dilución en tubos, ensayando concentraciones de 60%, 40%, 20% y 10% del extracto etanólico de vainas de *C. spinosa* a los cuales se sembró en placas con Agar Mueller Hinton para determinar las unidades formadores de colonias. Como resultado se mostró que todas las concentraciones presentaron efecto inhibitorio del crecimiento de *E. faecalis* y la concentración mínima inhibitoria fue de 40%. Se concluyó que el extracto etanolico de vainas de *Caesalpinia spinosa* (tara) posee actividad inhibitoria in vitro sobre el crecimiento de cepas de *Enterococcus faecalis.*

Haro V[7] en 2015, Ecuador. Determinó estudio in vitro de la eficacia antibacteriana entre el extracto alcohólico de Tara 100% e hipoclorito de sodio 5,25% sobre el *E. faecalis*. Embebiendo sensidiscos con 50uL de cada solución y colocándolos en medios de cultivo Mueller Hilton previamente preparados con colonias jóvenes de *E. faecalis*, incubando las muestras a 37°C de 24 a 72 horas. Los resultados obtenidos en halos inhibitorios demostraron que ambas soluciones fueron capaces de producir inhibición del crecimiento bacteriano; siendo durante las primeras 24 h el NaOCl 5,25% más efectivo en comparación con el extracto de Tara 100%. Adicional a esto, se investigó el efecto de sustantividad de las soluciones en el transcurso de 48 y 72 h; encontrando que el extracto de Tara 100% posee un efecto antimicrobiano mayor y prolongado en contraste con el NaOCl 5,25%, el cual presentó un efecto antibacteriano menor.

Jiménez et al[8] en 2014, Costa Rica. Analizaron el protocolo de desinfección más eficiente, ante las especies *S. aureus y E. faecalis* en concentraciones de 1.5x105 UFC/ ml y 1.5x108 UFC/ml, de acuerdo al tiempo de exposición y concentración de la solución desinfectante de hipoclorito de sodio. Se tomaron 72 conos de gutapercha al azar, se contaminaron con los microorganismos *S. aureus y E. faecalis*, posteriormente se desinfectaron utilizando NaOCl al 3,7%

y 5,8%, durante 1 y 3 minutos, luego se realizó recuento de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) bacterianas. Se dio como resultado que los conos de gutapercha desinfectados con NaOCl al 3,7% y NaOCl al 5,8%, no mostraron diferencias estadísticamente significativas en el conteo de UFC bacterianas entre sí, aunque si con el grupo de control negativo. Tampoco se observaron diferencias significativas entre los grupos desinfectados durante 1 o 3 minutos.

Gomes et al[9] en 2014, Brasil. Evaluaron la eficacia, en dos periodos de tiempo, del hipoclorito de sodio y la clorhexidina en la desinfección de conos de gutapercha. Se utilizó 50 conos de gutapercha, previamente contaminados con bacteria del género *Enterococcus faecalis* en cultivos puros. Para la descontaminación los conos se dividieron en cuatro grupos, que contuvieron 10 muestras cada uno: G1- hipoclorito de sodio 5.25% por 30 segundos; G2 - hipoclorito sódico al 5,25% durante 1 minuto; G3 - clorhexidina al 4% durante 30 segundos; G4 - clorhexidina al 4% durante 1 minuto. Después de este período, todos los conos se sumergieron individualmente en tubos de ensayo que contienen Brain Heart Infusión, mantenido en incubadora bacteriológica a 37 ° C durante 72 horas. Como resultado hubo ausencia de crecimiento bacteriano en los grupos 1, 2, 3 y 4, en todos los experimentos períodos. En el grupo de control positivo se verificó el 100% de contaminación y en los tubos de control negativo no se verificó la presencia de crecimiento bacteriano. En conclusión, las soluciones de hipoclorito de sodio al 5,25% y 4% de clorhexidina durante 30 segundos y 1 minuto tienen efectividad antimicrobiana contra *Enterococcus faecalis*, que se puede utilizar en la desinfección de conos de gutapercha en el tiempo probado.

Castillo L[10] en 2013, Ecuador. Evaluó el grado de contaminación de los conos de gutapercha y la efectividad del hipoclorito de sodio y la clorhexidina como agentes descontaminantes. Se analizaron microbiológicamente 30 conos de gutapercha. Se fijó en primer lugar ver las condiciones en las que se encontraban en sus dispensadores tal como se expenden en el mercado y no se encontró células bacterianas en sus superficies. Posteriormente fueron seleccionados conos de gutapercha, 10 Maillefer (33.33%), 10 New Stetic (33.33%) y 10 Bbecht (33.33%).Gluconato de Clorhexidina al 0.12% y 2%

durante 3 minutos se observó crecimiento bacteriano pero al incrementar el periodo de tiempo a 5 minutos resulto eficaz en ambas concentraciones y Al utilizar hipoclorito de sodio no se observó crecimiento bacteriano cuando los conos de gutapercha de las 3 marcas comerciales fueron sumergidos al 2.5% durante 5 minutos y al 5% durante 3minutos. Se concluyó que el gluconato de clorhexidina al 0.12% y 2%, no fue eficaz para la descontaminación de los conos de gutapercha.

Oyarzun G[11] en 2013, Chile. Determinó la efectividad de soluciones desinfectantes de uso habitual sobre conos de gutapercha previamente contaminados. Se evaluó las soluciones desinfectantes de gluconato de clorhexidina al 2%, hipoclorito de sodio al 5,25% y alcohol de 70° a los tiempos de 1 y 3 minutos de inmersión, en la desinfección de los conos de gutapercha previamente contaminados con cepas de *Staphylococcus Aureus, Actinomyces, Enterococcus faecalis, y Cándida albicans*. El gluconato de clorhexidina al 2% e hipoclorito de sodio al 5,25% no mostraron evidencia estadísticamente significativa que demuestre ser mejor al alcohol de 70° en la descontaminación de los conos de gutapercha. Se concluyó que las soluciones de gluconato de clorhexidina al 2%, de hipoclorito de sodio al 5,25% y alcohol de 70° son eficientes en la desinfección de los conos de gutapercha.

1.3. Teorías relacionadas al tema.

1.3.1. Endodoncia

La Endodoncia es la rama de la odontología la cual se especializa en el tratamiento del conducto de la raíz dental; esta definición resulta muy general tomando en cuenta que en el conducto radicular encontramos un gran ecosistema conformado por venas, arterias, nervios y microorganismos. Cuando existe una caries dental muy profunda, el diente se convierte en un foco infeccioso y en un puente de traspaso de bacterias del medio externo (cavidad bucal) al medio interno (pulpa, hueso y tejidos periapicales), a su vez, Goldberg[11], define a la Endodoncia como el campo de la Odontología que estudia la morfología de la cavidad pulpar, la fisiología y la patología de la pulpa dental, así como la prevención del tratamiento de las alteraciones pulpares y de sus repercusiones sobre los

tejidos periapicales. La Endodoncia se la realiza mediante un protocolo estricto de procedimientos que deben ser llevados a cabo con mucho cuidado y con todo el profesionalismo necesario, ya que un procedimiento va a depender directamente del anterior.[12]

1.3.2. Obturación

El último procedimiento de la endodoncia es la obturación, parte fundamental en el tratamiento de conductos, ya que el éxito de éste, está en interrumpir la comunicación y la fuente de alimentación que tienen las bacterias para proliferar y producir mayor infección que afecta a tejidos adyacentes, y así evitar un fracaso en el tratamiento de endodoncia. Las obturaciones posteriores con diversos metales, tales como, oxicloruro de zinc, parafina y amalgama, proporcionaron grados variables de éxito y satisfacción. También, en 1847, Hill desarrolló el primer material de relleno del conducto radicular a base de gutapercha, conocido como "condensador de Hill", dicho preparado consistía principalmente en gutapercha y carbonato de calcio blanqueado y cuarzo, este material fue patentado en 1848 e introducido en la práctica odontológica.[12]

1.3.2.1. Materiales para la obturación

La obturación de los conductos es llevada a cabo con materiales de obturación introducidos en el conducto radicular con el objetivo de sellar dicho espacio. De los materiales a ser utilizados durante el procedimiento de obturación se exigen una serie de propiedades que pueden ser divididas en biológicas y químico-físicas. El dominio y el conocimiento de estas propiedades son imprescindibles en la selección del material a ser utilizado. [12]

1.3.2.1.1. Propiedades biológicas[12]

- Buena tolerancia tisular: el material debe ser biocompatible con el organismo y no generar algún tipo de reacción adversa o inflamatoria.
- Reabsorción: el material debe ser reabsorbido en casos de extravasación accidental y el organismo produzca la remoción en la región apical.

- Estimular o permitir la reparación de la región periapical ya que éste no debe impedir este proceso.
- Acción bactericida o bacteriostática
- Buen tiempo de trabajo.
- Propiciar un buen sellado.

1.3.2.1.2. Clasificación de los materiales de obturación[13].

a. Materiales en estado sólido: Encontramos los Conos de gutapercha y los conos de resina.
b. Materiales en estado plástico: Aquí tenemos los cementos.

1.3.3. Conos de gutapercha[13]

La gutapercha es un polímero lineal que se fusiona a una temperatura fija, provocando un cambio aleatorio pero característico de la estructura. Es introducido en Endodoncia por Bowman en 1867, siendo hasta ahora la sustancia más popular y usada en la obturación de conductos radiculares. La savia del árbol Isonandra guta de la familia de las Sapotáceas es la materia prima para la gutapercha. Químicamente, se define como la forma trans de polisopreno y es más duro, más frágil y menos elástico que el caucho natural más familiar.

El cono de gutapercha posee cierta actividad antimicrobiana debido a su componente de óxido de zinc. A pesar de esta actividad antimicrobiana, dos estudios han informado de que: según Montgomery S el 8% y según Namazikhah MS, Sullivan DM, Trnavsky GL el 20% de los conos de gutapercha sacados de su paquete sellado cedieron el crecimiento bacteriano cuando se cultivan en placas de agar, respectivamente

La gutapercha por su naturaleza no es esterilizable antes de su uso en técnicas estándar de obturación. Esta preocupación podría plantear un problema clínico para asegurar la esterilidad de la gutapercha antes y durante su uso. Sin embargo, ha sido demostrado que la gutapercha, en sí misma, posee una baja, pero significante acción antimicrobiana atribuible al componente de óxido de zinc. En el presente, no existen muchos estudios microbiológicos que han estudiado a los conos de gutapercha siendo utilizados directamente del paquete sellado por el fabricante, y por

esta razón los dentistas están en gran duda acerca de la necesidad de la desinfección de los conos de gutapercha durante el tratamiento de endodoncia.

1.3.3.1. Composición de los conos de gutapercha[13]

Después de purificar la materia prima, originalmente obtenida para confeccionar los conos, se le agregan varias sustancias para mejorar sus propiedades físico-químicas, principalmente la dureza, la radiopacidad, la maleabilidad y la estabilidad. Según Goldberg[13] la composición de la gutapercha para uso endodóntico se compone por:

1. Gutapercha 19 a 22 %
2. Óxido de Zinc 59 a 79 %
3. Sales de metales pesados 1 a 17 %
4. Cera de resina 1 a 4 %.

En general el contenido específico de cada producto es un secreto de fabricación. Se ha sugerido el empleo de gutapercha antiséptica, con diversos fármacos antimicrobianos añadidos, pero no se dispone de información fiable sobre el efecto de tales aditivos.

1.3.3.2. Usos y aplicaciones en endodoncia

Los conos de gutapercha se usan como relleno en tratamientos de endodoncia, poseen radiopacidad, inalterabilidad en sus dimensiones y flexibilidad. Sus excelentes propiedades biocompatibles y físico-químicas aseguran un adecuado sellado radicular. Los conos de gutapercha son el material semisólido más utilizado en la obturación de conductos radiculares. Su área de aplicación es la Endodoncia. La gutapercha no se puede utilizar como único material de relleno, puesto que carece de calidad de adherencia necesaria para sellar el espacio del conducto radicular.[14]

1.3.3.3. Indicaciones del empleo de la gutapercha como material de obturación[14]

a. En dientes que requieran un perno para el refuerzo de la restauración coronaria.

b. En dientes anteriores que requieren blanqueamiento o en casos de apicectomía.
c. Siempre que se trabaje con paredes irregulares ya sea debido a la anatomía del conducto o como resultado de la preparación.
d. Cuando se prevé la presencia de un conducto lateral o accesorio, cuando se determina la presencia de foraminas apicales múltiples o en casos de resorción interna.
e. Cuando en conductos extremadamente anchos es posible fabricar un cono de gutapercha adaptado al caso individual tratado.

1.3.3.4. Ventajas de los conos de gutapercha[14]

a. Pueden ser compactados y se adaptan bien a las irregularidades del conducto.
b. Pueden ser ablandados y convertidos en un material plástico mediante el calor o solventes comunes (eucaliptol, cloroformo, xylol)
c. Son inertes.
d. Poseen estabilidad dimensional.
e. Son tolerados por los tejidos (no alergénicos)
f. No alteran la coloración de los dientes.
g. Son radiopacos.
h. Pueden ser retirados fácilmente del interior del conducto cuando es necesario.

1.3.3.5. Desventajas de los conos de gutapercha[14]

a. Carecen de rigidez.
b. Carecen de adherencia.
c. Pueden ser desplazados fácilmente mediante presión. Puesto que, no hay control en la longitud de la obturación por lo que es necesario un tope apical efectivo
d. Difícil esterilización química o por calor.

1.3.3.6. Desinfección de los conos de gutapercha[14]

Los conos de gutapercha han sido considerados como el mejor material para la obturación endodóntica, sin tener en cuenta la técnica elegida. La gutapercha es un polímero obtenido de la coagulación del látex producido por árboles de la familia de las Sapotaceae es rígida a temperatura ambiente, se vuelve maleable entre 25 y 30 ºC, se ablanda a los 60 ºC y se funde a los 100 ºC con una descomposición parcial. Los conos de gutapercha están compuestos, aproximadamente, por un 18 a 22% del polímero gutapercha, un 59 a 75% de óxido de zinc y un 1,1 a 17,2% de sulfato de bario.

Existe alguna controversia en cuanto a si es necesaria o no la esterilización de los conos de gutapercha, debido a las características de los materiales que lo componen, y/o la actividad antibacteriana del sellador, que es utilizado normalmente con los conos de gutapercha durante la obturación del conducto radicular. Se ha sugerido desinfectar los conos con hipoclorito de sodio, aunque el depósito de cristales en su superficie y las alteraciones morfológicas ocasionadas podrían influir en su ajuste; se ha propuesto que un enjuague con alcohol etílico 96º eliminaría esos cristales de hipoclorito.

1.3.4. Fracaso en el tratamiento endodóncico[15]

Cuando ocurre un fracaso en el tratamiento endodóntico, el retratamiento debe constituirse en un trabajo completo de calidad y eficacia con el objetivo de obtener un éxito; para lograr tal éxito es necesario un cuidado muy minucioso en la desinfección radicular y erradicar la causa del fracaso endodóntico. El éxito o fracaso del retratamiento dependerá de si existe o no una lesión periapical, de la desinfección y sellado íntegro que el profesional realice durante el tratamiento.

El fracaso del tratamiento se relaciona con la condición en la que la pulpa dentaria se encontraba, la anatomía dentaria y la técnica con la que el diente fue tratado para rehabilitarlo integralmente. Cualquiera que fuera la causa del fracaso endodóntico, es imprescindible el empleo de un irrigante; el cual nos brinde una reducción de la carga microbiana evitando de

sobremanera un posterior fracaso; ya que una de las causas principales del fracaso endodóntico es la persistencia y resistencia de los microorganismos presentes en el conducto radicular manifestándose con una lesión periapical persistente.

Existen microorganismos que durante y después del tratamiento de conducto son capaces de sobrevivir ante el empleo de soluciones y medicamentos intraconducto, pese al estado de inanición en el que se encuentran; como el *Enterococcus faecalis y Candida albicans*.

1.3.5. *Enterococcus faecalis*

Son bacterias las cuales se las identifica normalmente en el tracto gastrointestinal, son responsables de enfermedades mortales para el ser humano debido a sus capacidades de supervivencia y resistencia a medicamentos y ambientes en los que se encuentren colonizando; son capaces de sobrevivir inclusive por falta de nutrientes; capaces de resistir temperaturas elevadas en presencia o no de oxígeno y medicamentos de amplio espectro; de igual forma estudios moleculares indican su frecuencia en la cavidad bucal en el surco gingival y lengua.[16]

1.3.5.1. *Enterococcus faecalis* y su relación con Endodoncia

Debido a que el *E. faecalis* resulta una gran amenaza para el tratamiento terapéutico frente a diversos medicamentos antibióticos gracias a su resistencia bacteriana a fármacos como la vancomicina; en el campo odontológico no es la excepción, por lo que resulta una bacteria muy predominante y resistente al momento de erradicar un proceso infeccioso periapical, en el cual es responsable dicha bacteria y sobre todo resiste al tratamiento de conducto incluso con la aplicación de medicamentos intraconducto y sustancias desinfectantes.[17]

La presencia de microbiota en endodoncia puede variar dependiendo del tipo de infección intrarradicular que se presente, primaria, secundaria o persistente; pero no obstante el *E. faecalis* se encuentra presente en cualquier tipo de infección intrarradicular a diferente

porcentaje; identificándolo en mayor prevalencia y frecuencia en las infecciones intrarradicular persistentes.[17]

Por la relación del *E. faecalis* con los diversos tipos de infecciones intrarradiculares, su resistencia bacteriana frente a medicamentos antibióticos y de conducto, su gran capacidad de patogenicidad y su gran prevalencia en los fracasos de tratamientos de conducto; es de suma importancia clínica una opción terapéutica dirigida a su erradicación.

1.3.6. Agentes antimicrobianos

1.3.6.1. Hipoclorito de Sodio[18]

Una de las sustancias más utilizadas para irrigación en endodoncia es el hipoclorito de sodio. Conocido también como lejía doméstica, es una sustancia halogenada que por sus propiedades físico- químicas se prefiere en lugar de otros irrigantes. Su acción permite limpiar mecánicamente los residuos que quedan de la instrumentación. Es una sustancia que ejerce su acción sobre los tejidos orgánicos tanto vitales como necróticos. Elimina bacterias destruyendo la membrana plasmática y neutraliza los componentes antigénicos que se hayan liberado de los microorganismos en los conductos radiculares. Su acción bactericida es en microorganismos que son resistentes a muchas soluciones irrigantes como son las especies de Enterococos, Actinomices y también hongos como la Cándida. Es un compuesto químico, fuertemente oxidante, su fórmula es NaOCl. Existen en varias concentraciones: 0.5 %, 1%, 2,5 % y 5,25 % Soda Clorada o Cloro común.

a. Mecanismo de acción:

- **Reacción de cloraminación:** al existir liberación de iones hidroxilo entra en contacto el ácido hipocloroso con la materia orgánica comportándose como disolvente de los tejidos y liberando cloro el cual se une a proteínas del grupo amina formando cloraminas que van a actuar como antimicrobiano.

- **Saponificación:** actúa como solvente orgánico degradando los ácidos grasos en sales ácidas grasos y reduce la tensión superficial de la raíz. Neutralización de aminoácidos: el hidróxido de sodio actúa neutralizando aminoácidos, destruyendo ácidos grasos, produciendo agua y sal, de esta forma ocurre la reducción del pH.

b. Ventajas:

El hipoclorito de sodio por su amplia utilización en endodoncia presenta las siguientes:

- El hidróxido de sodio es un potente solvente orgánico.
- Un potente antimicrobiano porque libera cloro.
- Bajo costo.
- pH 12 alcalino.
- Buena capacidad de limpieza.

c. Desventajas:

El hipoclorito de sodio tiene desventajas debido a su composición química entre las cuales podemos enunciar:

- Irrita tejidos periapicales y blandos.
- Corroe el instrumental.
- Efecto antibacteriano limitado ante ciertos microorganismos.
- Sabor desagradable

d. Propiedades del hipoclorito de sodio:

- **Disolvente de tejidos orgánicos:** el hipoclorito de sodio disuelve la materia orgánica alojada y adherida en las paredes y superficies a nivel del conducto radicular.
- **Efecto antimicrobiano:** a nivel del conducto radicular se alojan bacterias anaerobias como los estreptococos y *Enterococcus faecalis* siendo el hipoclorito de sodio un irrigante eficaz para su eliminación por ser un potente bactericida para desinfectar los conductos radiculares.

- **Temperatura:** el calentamiento de la solución del hipoclorito de sodio aumenta las propiedades bactericidas conjuntamente con la disolución del tejido, dando como resultado que sus moléculas se relacionen más rápido produciendo así una desintegración de las superficies, para tal efecto la solución se mantiene estable por no más de 4 horas posterior a este tiempo empieza a degradarse.

1.3.6.2. Gluconato de Clorhexidina[19]

La clorhexidina (CHX) se ha usado en la terapia periodontal durante muchos años. Se presenta en tres formas: sales de digluconato de acetato y de hidrocloruro. La más utilizada en productos bucales es el digluconato. El ingrediente activo de la mayoría de los preparados orales, no puede ser aislado como sólido sino si no se obtiene como "solución madre" al 20% de lo cual derivarán, mediante la dilución en agua o en alcohol, las diferentes concentraciones[19].

a. Propiedades de la clorhexidina:

La clorhexidina presenta las siguientes propiedades:

- Baja tensión Superficial.
- Efecto bactericida inmediato.
- Efecto bacteriostático prolongado.
- Baja toxicidad, a diferencia del NaOCl.
- No presenta olor desagradable.
- Fácil almacenamiento y manipulación.
- Relativamente inocuo.

b. Presentaciones:

Existen distintas presentaciones de Clorhexidina como geles, barnices, aerosoles (spray) microchips, chicle, comprimidos, tabletas, y en seda dental. Pero la forma más común usada es en colutorios en concentraciones: 0,1%, 0,12%, 0,2%, 1% y 2%. Dentro de sus características se destacan su gran peso molecular,

baja toxicidad, pH fisiológico, sustantividad, agente antimicrobiano de amplio espectro y alto costo[21].

c. Mecanismo de acción:

La Clorhexidina a pH fisiológico, distribuye su carga positiva sobre los átomos de hidrogeno en ambos lados del puente hexametileno y así tiene la habilidad de asociarse a las superficies cargadas negativamente como la hidroxiapatita del esmalte, la película adquirida y las proteínas salivales. Su efecto antimicrobiano se debe a que se une a los grupos fosfatos aniónicos de los lípidos de la pared celular de las bacterias y polisacáridos extracelulares de origen bacteriano (la cantidad absorbida depende de la concentración), a los cuales les cambia la estructura integral. La adsorción de ésta va a causar una alteración en la movilidad electroforética de todo microorganismo.

d. Actividad antimicrobiana

La clorhexidina es activa contra un gran rango de microorganismos tanto Gram (+) como Gram (-), levaduras, anaerobios facultativos y aerobios. Sin embargo, no tiene actividad frente a esporas, ni virus. A bajas concentraciones la clorhexidina tiene un efecto bacteriostático y a concentraciones mayores es bactericida. Aun así, cada tipo de microorganismo puede presentar variaciones en su susceptibilidad. Gusbeti comparó resultados en cuanto a la efectividad de colutorios de peróxido de hidrógeno y clorhexidina, observando que 71% de *Streptococcus* facultativos fueron reducidos por la clorhexidina y que existía un mayor efecto sobre la familia de *Actinomyces* como *A. viscosus* (99,9%) y *A. naeslundii*. La acción antimicrobiana de la clorhexidina es el resultado de la absorción en la pared celular de los microorganismos, causando la filtración de sus componentes celulares. [22]

1.3.7. *Caesalpinia spinosa*[20]

Identificación botánica de la especie

- Nombre científico: *Caesalpinia spinosa*, Molina o Kuntze.
- Nombres comunes: tara, taya, divi divi de tierra fría o dividi de los andes, guarango, vinillo, serrano, cuica.
- Familia: Leguminosae Caesalpinieae
- Géneros: 48 dentro de los cuales se encuentra el género Caesalpinia.
- Especies: 51 especies dentro de las cuales consta la Caesalpinia spinosa.
- Su nombre se debe a su descubridora Andrea Caesalpini, botánica y filosofa italiana; el término spinosa proviene del latín "spinosus-a-um" que significa con espinas

a. Descripción botánica

Es un árbol pequeño cilíndrico propio de la zona andina, mide entre 3 a 5 metros de longitud, posee una corteza gris espinosa, provista de ramas pobladas las cuales muchas veces nacen desde la base confundiéndose con varios tallos; su copa es escasa e irregular. Presenta unas hojas simples color verde oscuro, ovoideas a manera de plumas brillantes de 1,5 cm. Presenta flores amarillas rojizas reunidas a manera de racimos midiendo entre 8cm a 15 cm; los frutos en forma de legumbre aplanadas de color naranja miden entre 8 y 12 cm de longitud y 2 cm de ancho, posee de 4 a 7 semillas de color pardo negruzco en estado maduro; por lo general de un árbol de tara se puede obtener 20 kg a 40 kg de vainas recolectando al año siendo de esta manera que el árbol produce frutos cada 3 a 4 años y su media de vida es de 100 años.

b. Hábitat:

La tara crece en los climas secos, cálidos y subcálidos de la costa, en la vertiente occidental de los andes y valles interandinos. La tara es una especie muy plástica en clima y suelo. No es exigente en suelos, se desarrolla por su sistema radicular circular, que le permite afrontar la sequedad del suelo, crece bien en suelos francos, francoarenosos y pedregosos, con pH ligeramente acido a medianamente alcalino (pH 6 –

7.5). Es frecuente encontrarla en suelos lateríticos muy erosionados. No tolera suelos alcinos ni soporta heladas.

c. Composición química:

Al encontrarse la tara en estado silvestre posee un gran potencial médico, alimenticio e industrial. Por lo cual son usadas las vainas y semillas de tara, las cuales ofrecen ciertas propiedades que pueden ser aprovechadas debido a su composición química:

- **Hojas:** está compuesta de aminoácidos, taninos, flavonoides, triterpenos y antroquinonas.
- **Semillas:** están conformadas por goma o hidrocoloide galactománico el cual gracias a esta goma se forma una solución acuosa semejante al pseudoplástico.
- **Vainas:** contiene taninos los cuales son hidrolizables la cual conlleva a la separación de ácido gálico, galato de etilo y cuatro galatos del ácido quinico que corresponden a esteres metílicos de 4,5 - di - Ogaloilquínico y de 3, 4, 5 – tri - O - galoilquínico, y a los ácidos 3, 4 – di – O - galoilquínico y 3, 4, 5 – tri – O - galoilquínico.

d. Usos tradicionales:

Los frutos de la tara brindan diversos productos de interés, teniendo así que la vaina madura de tara representa un 65% de peso de los frutos teniendo una concentración mayor de taninos entre 40% y 60%

- Los taninos son polímeros polifenólicos que contienen las plantas produciéndolos como compuestos secundarios los cuales forman complejos con proteínas, ácidos nucleicos, esteroides, polisacáridos, alcaloides; protege a la planta ante el ataque de insectos.
- Estos taninos son empleados en la industria textil para la elaboración de productos plásticos, adhesivos o el curtido de cueros; como bactericida y fungicida, aclarador de vinos, sustituyente de la malta para dar cuerpo a la cerveza y dentro de la industria farmacéutica al tener diversos usos terapéuticos.
- Gracias a los taninos se obtiene el ácido gálico el cual es empleado como antioxidante en la industria cervecera y de aceite al tener

efecto decolorante y blanqueador. También se emplea en la fotografía como tintes, agentes curtiembres, productos farmacéuticos.

e. Actividad terapéutica

Debido a las propiedades y usos que los taninos ofrecen, investigadores han realizado diversos estudios para determinar las acciones farmacológicas que pueda brindar esta planta, entre las cuales son:

- En la industria médica se emplea en los medicamentos gastroenterológicos para el alivio de úlceras debido a su propiedad cicatrizante, antiinflamatorio, antibacteriano, antimicótico, odontálgico y antidisentérico.
- Aporta con una acción astringente gracias a la capacidad de precipitar las proteínas de la piel y de la saliva.
- En la medicina tradicional es empleada para el alivio de afecciones de garganta, infecciones vaginales, sinusitis, infecciones micóticas, limpieza de heridas, dolor de estómago, resfriado y depurativo del colesterol.

1.4. Formulación del Problema.

¿Cuál es la diferencia entre el efecto del extracto hidroetanólico de las semilla de *Caesalpinia spinosa* (tara), hipoclorito 5,25% y gluconato de clorhexidina 2% en la desinfección *in vitro* de conos de gutapercha contaminados con *Enterococcus faecalis* ATCC 29212?

1.5. Justificación e importancia del estudio.

En la mayoría de los casos, se ha asociado el fracaso en los tratamientos endodónticos, a una falla en el proceso de desinfección o una desinfección inadecuada de la gutapercha ya que el material no se encuentra estéril y al entrar en contacto directo con el conducto radicular se convierte en una vía de infección de dicho conducto. El principal microorganismo asociado al fracaso en el tratamiento endodóntico según la mayoría de reportes científicos es *Enterococcus faecalis*, esto la ha convertido en la bacteria más prevalente de este cuadro clínico según las últimas publicaciones. Por otra parte, los conos

de gutapercha son hoy en día el material más utilizado en la obturación del sistema de conductos y pueden ser contaminados por agentes patógenos durante la manipulación y procesos de almacenamiento en la clínica y en el consultorio dental, y se han convertido en un problema ya que no pueden ser esterilizados por métodos convencionales debido a su fragilidad frente a las temperaturas altas.

Actualmente existen alternativas terapéuticas en la biodiversidad de plantas medicinales, una de ellas es la *Caesalpinia spinosa*, más conocida como "tara" que presenta actividad antioxidante y antibacteriana. También encontramos soluciones químicas como el hipoclorito de sodio 5,25% y el gluconato de clorhexidina 2%, eficientes antibacterianos, pero tóxicos, residuales y con otros efectos colaterales. Por lo tanto, es importante prevenir y contribuir a mejorar un buen pronóstico y éxito del tratamiento endodóntico. Por ello, el propósito de la presente investigación determina la diferencia in vitro entre el efecto del extracto hidroetanólico de tara, hipoclorito 5,25% y gluconato de clorhexidina 2% en la desinfección de conos de gutapercha contaminados con *Enterococcus faecalis*. Bajo esa perspectiva, consideramos importante para el campo de la odontología, la realización de la presente investigación ya que permitirá identificar cuál de los agentes antimicrobianos es el más efectivo para su uso como desinfectante de los materiales de uso odontológico, y si en un futuro cercano los extractos alcohólicos vegetales como el de la tara podrían reemplazar a los desinfectantes químicos, con la misma efectividad y sin efectos negativos y al alcance del cirujano dentista que podrá garantizar una atención con alta eficiencia y seguridad para el paciente.

1.6. Hipótesis.

Hi: El extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) tiene mayor efectividad que el hipoclorito 5.25% y gluconato de clorhexidina 2% en la desinfección *in vitro* de conos de gutapercha contaminados con *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Ho: El extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) no tiene mayor efectividad que el hipoclorito 5.25% y gluconato de clorhexidina 2% en la desinfección in vitro de conos de gutapercha contaminados con *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

1.7. Objetivos.

1.7.1. Objetivo General

Comparar el efecto entre el extracto hidroetanólico de semilla de *Caesalpinia spinosa* (tara), hipoclorito al 5,25% y gluconato de clorhexidina al 2% en la desinfección *in vitro* de conos de gutapercha contaminados con *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

1.7.2. Objetivos Específicos

1. Evaluar el efecto del extracto hidroetanólico de semilla de *Caesalpinia spinosa* (tara) en la desinfección *in vitro* de conos de gutapercha contaminados con *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.
2. Evaluar el efecto del hipoclorito al 5,25% en la desinfección *in vitro* de conos de gutapercha contaminados con *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.
3. Evaluar el efecto del gluconato de clorhexidina al 2% en la desinfección *in vitro* de conos de gutapercha contaminados con Enterococcus faecalis ATCC 29212.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Tipo y Diseño de Investigación.

Tipo

De acuerdo al enfoque de la investigación fue de tipo cuantitativo

Diseño

De acuerdo a la manipulación de la variable de estudio el diseño fue experimental.

De acuerdo a la planificación de la recolección de datos fue prospectivo.

De acuerdo al número de medidas fue transversal.

De acuerdo al número de variables por analizar el diseño fue analítico.

2.2. Población y muestra.

Está compuesta por conos de gutapercha marca Maillefer®.

Muestra de estudio

El cálculo para el número de muestra se determinó de acuerdo a la fórmula:

$$n = \frac{2(Z\alpha + Z\beta)^2 * S^2}{d^2}$$

Dónde:

N: Tamaño de cada grupo de estudio.

Zα: 1.960 coeficiente de confiabilidad para α=0.05

Zβ: 1.645 coeficiente de confiabilidad para β=0.05

S: 1,13 varianza de la variable cuantitativa

d: 1.06 valor mínimo de la diferencia que se desea detectar (datos cuantitativos)

Muestreo:

$$n = \frac{2(\,Z\alpha + Z\beta)^2 * S^2}{d^2}$$

$$n = \frac{2(\,1.960 + 1.645)^2 * (1.13)^2}{1.06^2}$$

$$n = \frac{2(3.605)^2 * 1.2769}{1.12}$$

$$n = \frac{2(12.996) * 1.2769}{1.12}$$

$$n = \frac{25.9920 * 1.2769}{1.12}$$

$$n = 29.63$$

La muestra estará representada por 90 conos de gutapercha, divididos en 3 grupos, de 30 conos cada uno.

Criterios de inclusión

Conos de gutapercha de cajas de uso clínico.

Conos de gutapercha de cajas selladas nuevas.

Criterios de exclusión

Conos con fecha de expiración.

Conos de gutapercha deformados.

Conos con signos de estar húmedos.

2.3.Variables, Operacionalización.

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	VALOR FINAL	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE MEDICIÓN
Desinfección de conos de gutapercha (V.DEPENDIENTE)	Eliminación de los gérmenes que infectan o que pueden provocar una infección en un cuerpo o un lugar.	Adherencia del microorganismo, medido por unidades formadoras de crecimiento	Conteo de colonias	UFC/ml	Cuantitativa discreta	De razón
Agentes antimicrobianos (V. INDEPENDIENTE)	Sustancias químicas de usos odontológicos utilizados como irrigantes para inhibir el desarrollo de bacterias asociadas al fracaso del tratamiento endodóntico.	Agentes físicos o químicos capaces de eliminar las formas vegetativas de los microorganismos pero no sus esporas.	Rotulo de frasco	Hipoclorito de Sodio 5.25% Gluconato de Clorhexidina 2% Caesalpinia spinosa (tara) 60%	Cualitativa politómica	Nominal

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

La técnica que se consideró en la investigación fue la observación clínica y los datos fueron registrados en una ficha de recolección de datos. La ejecución fue realizada en el laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo, Filial Piura. (Anexo 3)

2.4.1. Protocolos de experimentación: Obtención del extracto Hidroetanolico de *Caesalpinia Spinosa* (Tara)

Las vainas de *Caesalpinia spinosa* (tara) se desinfectaron con una torunda de algodón humedecida con alcohol al 96%y se procedió a la extirpación de las semillas las cuales se trituraron utilizando un mortero, se dejaron macerar por una semana. El material utilizado fueron 200 gr de semilla de *Caesalpinia Spinosa* (Tara) y se agregaron 400mL de etanol más 80ml de agua estéril en una botella de vidrio ámbar cerrado herméticamente. La botella se agitó durante siete días. Después el producto fue filtrado con papel filtro y se obtuvo un extracto purificado libre de residuos. El extracto obtenido fue distribuido en placas Petri llevadas a una caja solo con aberturas hacia los costados, se utilizó un ventilador hasta sequedad, el residuo seco que se atuvo fue guardado en refrigeración a 2 °C en frasco de vidrio color ámbar, hasta su reactivación en agua destilada estéril hasta que fue utilizado. (Anexo 2)

2.4.2. Obtención y esterilización de los conos de gutapercha

Los conos de gutapercha fueron adquiridos en casas comerciales de productos odontológicos. Fueron de la marca MAILLEFER (Dentsply), ISO 045-080. Lote: 060114. F.V: 01/2019. N° 080. Se esterilizaron mediante radiación UV (Anexo 3)

2.4.3. Cultivo de la cepa de *Enterococcus faecalis*

La cepa de *E. faecalis* ATTC 29212 fue obtenida del laboratorio de la Universidad Cesar y cultivada en Caldo Nutritivo. Los cultivos fueron incubados en condiciones de anaerobiosis controlada a 37°C durante 48 horas. Para los ensayos de viabilidad bacteriana, 4 colonias fueron incubadas en 3ml de BHI e incubadas en condiciones de microaerofilia a

37°C durante 24 horas de 0,5 escala de McFarland, cual representa una concentración estimada $1,5x10^8$ UFC/mL. El estándar de McFarland fue preparado para incubar los conos de gutapercha.

2.4.4. Contaminación de los conos de gutapercha

Los conos de gutapercha fueron sumergidos dentro de un tubo 3ml que contenía el inóculo bacteriano de *E. faecalis* a una concentración de 1.5 x 10^8 UFC/mL. Las muestras fueron incubadas en microaerofilia a 37°C durante 24 horas. Como control de esterilidad del cono de gutapercha y del medio de cultivo, se colocó un cono de gutapercha en un tubo con caldo nutritivo y un tubo solo con caldo nutritivo se llevaron a incubación a 37°C durante 24 horas. (Anexo 9)

2.4.5. Desinfección de los conos de gutapercha en los agentes químicos

Los compuestos antimicrobianos utilizados fueron, *Caesalpinia spinosa* (tara) al 60%, hipoclorito de Sodio al 5,25% y Gluconato de Clorhexidina al 2%, los cuales fueron adquiridos de manera comercial con presencia de registro sanitario y las semillas de *Caesalpinia spinosa* (tara) fueron colectadas de la hacienda "El centurión" de la provincia de Cajabamba (Cajamarca- Perú). Los conos de gutapercha incubados previamente con *E. faecalis* fueron sumergidos dentro de un tubos de ensayos que contenían los compuestos químicos antes mencionados. El tiempo de inmersión fue de 3 minutos (tiempo de desinfección), cada cono fue tratado de manera independiente y para medir los tiempos se utilizó un cronómetro calibrado. Después del tratamiento con los agentes químicos, los conos fueron sembrados en placas Petri con Agar Soya Tripticasa y luego incubados, en condiciones de microaerofilia a 37°C durante 48 horas. Como control del ensayo, se utilizó una placa con Agar Soya Tripticasa donde se sembró un cono de gutapercha contaminado con *E. faecalis* sin tratamiento químico y una placa con Agar Soya Tripticasa sin contaminante (Anexo 9).

2.5. Procedimientos de análisis de datos.

Se realizo la lectura de los resultados utilizando un contador de colonias, cada colonia formada fue llamada unidad formadora de colonia (UFC). Posteriormente estos resultados fueron tabulados y analizados usando el paquete estadístico Spss V.24. Usando la prueba no paramétrica Kruskall Wallis con un nivel de significancia estadística del 5%.

2.6. Criterios éticos.

Los cultivos bacterianos utilizados en la presente investigación fueron eliminados mediante esterilización en autoclave (método físico de eliminación de microorganismos) y luego eliminados como residuos biocontaminados, a fin de salvaguardar la integridad de todas las personas que entren en contacto con dichos residuos.

2.7. Criterios de Rigor Científicos

La presente investigación se desarrolló aplicando la metodología estandarizada del Clinical y Laboratory Standards Institute (CLSI) institución responsable de normar las metodologías para la evaluación de cualquier producto con actividad antimicrobiana como fueron las sustancias utilizadas en la presente tesis, y para asegurar la precisión y confiabilidad de los resultados, se realizaron 10 duplicados por cada concentración de los extractos utilizados y 4 repeticiones de la investigación, desarrollado por un microbiólogo especialista, quien asegura la fiabilidad de los resultados y de la metodología.

III. RESULTADOS

3.1. Tablas y Figuras

Tabla 1. Comparación del efecto del extracto hidroetanólico de semilla de *Caesalpinia spinosa* (tara), hipoclorito al 5,25% y gluconato de clorhexidina al 2% antes y después de la desinfección *in vitro* de conos de gutapercha contaminados con *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

EXTRACTO	UFC *E. faecalis* / cono de gutapercha			
	Antes	Después	Diferencia	Sig.
Hipoclorito al 5,25%	250	0,5	249,5	0,000
***C. spinosa* 60%**	250	2,0	248,0	0,000
Clorhexidina al 2%	250	2,8	247,2	0,000
p**	0,000	0,000	0,000	

Sig. = Mann-Whitney
*p***= Kruskal-Wallis

La presente tabla relaciona el efecto desinfectante del extracto hidroetanólico de semilla de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 60%, hipoclorito al 5,25% y gluconato de clorhexidina al 2% en la desinfección in vitro de conos de gutapercha contaminados con *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Se observa que existe diferencia estadísticamente significativa (p=0,000) entre el efecto de cada sustancia. El hipoclorito tuvo el mayor efecto desinfectante, seguido por el extracto de tara y el gluconato de clorhexidina (Hipoclorito=0,55 UFC < Extracto de tara =2,0 UFC < Clorhexidina= 2,8 UFC).

Tabla 2. Comparación del efecto del extracto hidroetanólico de semilla de *Caesalpinia spinosa* (tara), hipoclorito al 5,25% y gluconato de clorhexidina al 2% antes y después de la desinfección *in vitro* de conos de gutapercha contaminados con *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Desinfectantes utilizados en Gutapercha	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
HIPOCLORITO	30	0,55		
CAESALPINIA SPINOSA	30		2,00	
CLOREXIDINA	30			2,81

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

Se observa que cada recuento de UFC se ubican en un grupo diferente, esto significa que los efectos desinfectantes de cada sustancia son diferentes entre sí estadísticamente (p=0,000).

3.2. Discusión de resultados

Los resultados muestran la efectividad antibacteriana del hipoclorito de sodio al 5.25%, el gluconato de clorhexidina al 2% y el extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* al 60%. Los resultados indican que el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* al 60% fue semejante al alcanzado por el gluconato de clorhexidina pero un poco menor al alcanzado por el hipoclorito de sodio al 5.25%, en cuyo caso se observó 99.7 % de efectividad antibacteriana. Estos resultados difieren con los obtenidos por Challco A[4], quien determinó la efectividad del alcohol isopropílico, hipoclorito de sodio, ácido paracético y clorhexidina en la desinfección de conos de gutapercha expuestos a *Enterococcus faecalis.* Estableciendo que el ácido paracético 1% y la clorhexidina 2% fueron los más efectivos en la desinfección de conos de gutapercha en los diferentes tiempos de exposición disminuyendo la viabilidad del *E. faecalis* en un 90% aproximadamente. Esto pudo deberse talvez a la concentración a la cual Challco evaluó el hipoclorito de sodio, que fue una concentración menor (1%) a la evaluada en la presente investigación (5.25%).

Por su parte Cevallos determinó la utilización del propóleo ecuatoriano de la región Costa y Sierra al 50%, comparándolos con el gluconato de clorhexidina al 2% e hipoclorito de sodio al 1% en la inhibición de la cepa *Enterococcus faecalis*. Demostrando que el propóleo ecuatoriano tuvo menor efecto antibacteriano sobre *Enterococcus faecalis* que el gluconato de clorhexidina al 2% e hipoclorito de sodio al 1%. Se puede apreciar que en esta investigación las sustancias químicas tuvieron semejante efecto antibacteriano, lo que se relaciona con los obtenidos en el presente estudio pero con la diferencia que el efecto alcanzado por el extracto de tara fue semejante al obtenido con el gluconato de clorhexidina al 2% e hipoclorito de sodio al 1%.

Los resultados permitieron comprobar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico *Caesalpinia spinosa* a la concentración de 60% y su potencial de uso como desinfectante. Lo encontrado en la presente investigación se relaciona con lo demostrado por Flores A[6] quien determino el efecto inhibidor *in vitro* del extracto etanólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* (tara) frente a cepas *Enterococcus faecalis.* Reportando que todas las concentraciones

muestran efecto inhibitorio del crecimiento de *E. faecalis* y la concentración mínima inhibitoria fue de 40%. Estableciendo que el extracto etanólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* (tara) posee actividad inhibitoria in vitro sobre el crecimiento de cepas de *Enterococcus faecalis.* Por su parte Haro V[7], determino *in vitro* la eficacia antibacteriana entre el extracto alcohólico de Tara 100% e hipoclorito de sodio 5,25% sobre el *Enterococcus faecalis.* Los resultados demostraron que ambas soluciones fueron capaces de producir inhibición del crecimiento bacteriano de *Enterococcus faecalis*; siendo durante las primeras 24 h el NaOCl 5,25% más efectivo en comparación con el extracto de Tara 100%. Lo que se confirma con los resultados obtenidos en el presente estudio.

Del mismo modo, Jiménez et al[8], analizaron el protocolo de desinfección más eficiente, ante las especies *S. aureus y E. faecalis* de acuerdo al tiempo de exposición y concentración de la solución desinfectante de hipoclorito de sodio. Obteniendo como resultado que los conos de gutapercha desinfectados con NaOCl al 3,7% y NaOCl al 5,8%, no mostraron diferencias estadísticamente significativas en el conteo de UFC bacterianas entre sí, aunque si con el grupo de control negativo. Tampoco se observaron diferencias significativas entre los grupos desinfectados durante 1 o 3 minutos. Estos resultados nos permiten fundamentar dos aspectos relacionados al hipoclorito de sodio; primero que presenta efecto antibacteriano a los tres minutos de exposición y a concentraciones superiores al 5% y segundo que existe diferencia significativa respecto al control negativo.

Los resultados obtenidos son semejantes a los encontrados por Gomes et al[9] quienes evaluaron la eficacia, del hipoclorito de sodio y la clorhexidina en la desinfección de conos de gutapercha obteniendo como resultado inhibición del crecimiento bacteriano en todos los experimentos períodos. Concluyeron que las soluciones de hipoclorito de sodio al 5,25% y 4% de clorhexidina durante 30 segundos y 1 minuto tienen efectividad antimicrobiana contra *Enterococcus faecalis*. Esto pudo deberse a que se trabajaron en concentraciones semejantes y en condiciones controladas.

Por su parte Castillo L[10] evaluó el grado de contaminación de los conos de gutapercha y la efectividad del hipoclorito de sodio y la clorhexidina como

agentes descontaminantes. Encontrando que el hipoclorito al 2.5 y 5 % es un potente desinfectante. Mientras que el gluconato de clorhexidina al 0.12% y 2%, no fue eficaz para la descontaminación de los conos de gutapercha. Estos resultados contrastan con los obtenidos en el presente estudio. Un factor determinante que pudo haber influenciado para que el investigador no haya encontrado efecto inhibitorio por parte de la clorhexidina pudo deberse a la cantidad de inóculo utilizada como contaminante y a la pureza del químico, que se pudo haber degradado por exposición a la luz o la materia orgánica.

Oyarzun G[11], determinó la efectividad de gluconato de clorhexidina al 2%, hipoclorito de sodio al 5,25% y alcohol de 70° a los tiempos de 1 y 3 minutos de inmersión sobre conos de gutapercha previamente contaminados. Encontrando que el gluconato de clorhexidina al 2% e hipoclorito de sodio al 5,25% y el alcohol de 70° son eficientes en la desinfección de los conos de gutapercha. Del mismo modo en la presente investigación se puede afirmar que el hipoclorito de sodio al 5.25%, el gluconato de clorhexidina al 2% y el extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 60% tienen capacidad desinfectante sobre conos de gutapercha contaminados con *Enterococcus faecalis*.

IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

1. El hipoclorito al 5,25% presentó el mayor efecto desinfectante, seguido por el extracto hidroetanólico de semilla de *Caesalpinia spinosa* (tara) y el gluconato de clorhexidina al 2% en la desinfección de conos de gutapercha contaminados con *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

2. El extracto hidroetanólico de semilla de *Caesalpinia spinosa* (tara), el hipoclorito al 5,25% y el gluconato de clorhexidina al 2% tienen efecto en la desinfección *in vitro* de conos de gutapercha contaminados con *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

4.2. Recomendaciones

1. Evaluar la efectividad antibacteriana de concentraciones menores del extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) y sobre otras bacterias de interés estomatológico.
2. Evaluar el efecto sinérgico o antagónico de los extractos hidroalcohólico y compuestos químicos utilizados en la desinfección de material odontológico.
3. Evaluar la efectividad antibacteriana con extracto de *Caesalpinia spinosa* (tara) libre de etanol.
4. Se recomienda realizar este tipo de investigación en conos de gutapercha de menor calibre de acuerdo con el uso en la práctica clínica.
5. Promover la comunicación de los resultados de la presente investigación a fin de que se puedan continuar con otros estudios que garanticen su aplicabilidad en un mediano o largo plazo.

REFERENCIAS

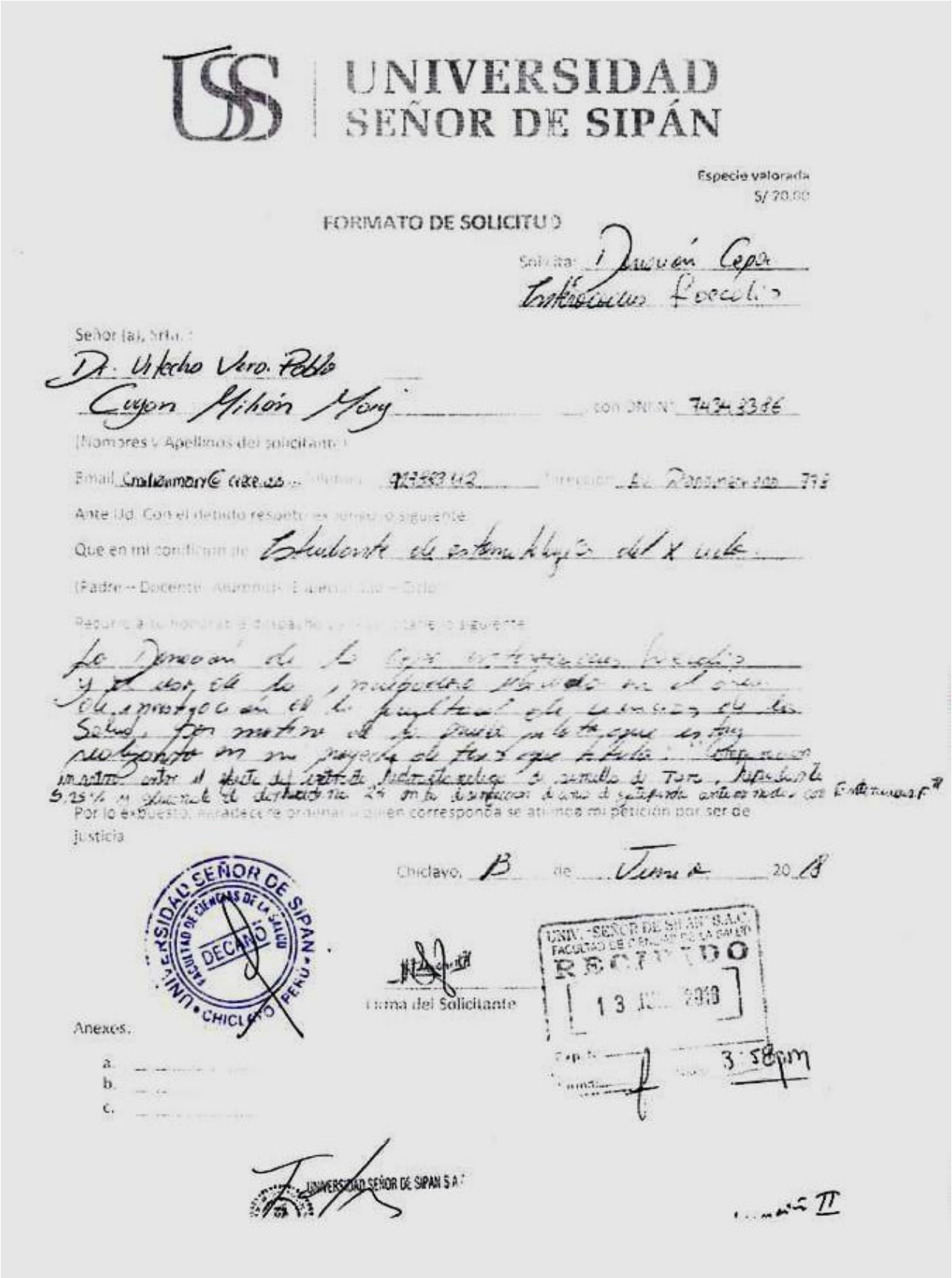
1. Moreno E. Evaluación de la contaminación de los conos de gutapercha utilizados en el curso de especialización en endodoncia (Tesis posgrado). Universidad Federal do Amazonas; Brasil. 2009.
2. Gordillo J. Evaluación del grado de contaminación microbiana de conos de gutapercha presentes en empaques totalmente sellados por el fabricante. (Tesis grado). Quito: Universidad San francisco de Quito; 2012. Disponible en: http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/1373
3. Spoleti M, Rodriguez N. Desinfection of gutapercha cones. Their effects on apical adjustment. Oral surg; 53(5):503-7. Madrid; 2013. Disponible en: https://rephip.unr.edu.ar/bitstream/handle/2133/2709/94-372-1-PB.pdf?sequence=2&isAllowed=y
4. Challco A. Efectividad del Alcohol Isopropílico, Hipoclorito de Sodio, Ácido Peracético y Clorhexidina en la desinfección de conos de gutapercha expuestos a *Enterococcus faecalis* ATCC (29212). Lima; 2017.
5. Cevallos G. Efecto inhibitorio de cepa *Enterococcus faecalis* usando propóleos ecuatorianos, gluconato de clorhexidina e hipoclorito de sodio: in vitro, Ecuador. universidad central del Ecuador. Facultad de Odontología Instituto Superior de Investigación y posgrado. Quito; 2017. Disponible en: http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/8278
6. Flores A. Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanolico de *caesalpinia spinosa* Tara sobre cepas de *Enterococcus faecalis*. Lima; 2016. Disponible en: http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/442.
7. Haro V. Estudio in vitro de la eficacia antibacteriana entre el extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 100% e hipoclorito de sodio al 5,25% sobre el *Enterococcus faecalis*. Ecuador; 2015. Disponible en: http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/4082
8. Jiménez B; Karen M, Villalobos C, Rojas N, Zeledón R, Montero M. Eficiencia de diferentes protocolos de desinfección de conos de gutapercha con naocl, ante las especies *S. aureus y E. faecalis*. Costa Rica. Rev. Cient. Odontol., Vol.10 / No. 1, Enero a Junio 2014. Disponible en: http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=324233026005

9. Gomes C, Coelho C, Lílian F, Shirley de Souza P, Magalhães S.Sambati S. Evaluation of sodium hypochlorite and chlorhexidine in disinfection gutta-percha cones. Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo 2014; 22(2): 94-103, MAI-AGO. Disponible em: DOI: 10.1016 / j.tripleo.2004.10.002
10. Castillo L. Evaluación in vitro del hipoclorito de sodio y el gluconato de clorhexidina como agentes químicos para la descontaminación de conos de gutapercha. Ecuador; 2013. Disponible en: http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/3382.
11. Oyarzún G. Efectividad de soluciones desinfectantes de uso habitual sobre conos de gutapercha previamente contaminados. Universidad de Chile Facultad de Odontología departamento de odontología conservadora área endodoncia, Chile, 2013. Disponible en: http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/139967
12. Córdova R. Evaluación del grado de contaminación de barras de gutapercha, antes y después del proceso de termoplastificación. Quito; 2017. http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/9132
13. Goldberg S. Endodoncia: Técnica y fundamentos Buenos Aires: Médica Panamericana; 2002.
14. Cardoso A, Kenji C, De Castro L. Single-cone obturation technique: a literature. RSBO Revista Sul-Brasileira de Odontologia. 2012.
15. Jain VM, Karibasappa GN, Dodamani AS, Vishwakarma PK, Mali GV. Comparative Assessment of Antimicrobial Efficacy of Different Antibiotic Coated Gutta-Percha Cones on *Enterococcus faecalis* An Invitro Study. J Clin Diagn Res. 2016; 10(9): 65-8.
16. Pereira W, Oliveira A, Souza C. Efecto antimicrobiano de la terapia fotodinámica sobre *Enterococcus faecalis*, estudio in vitro. Revista Estomatológica Herediana, vol. 21, núm. 4, 2011, pp. 185-189 Universidad Peruana Cayetano Heredia Lima, Perú.
17. Alvarado S. efecto antibacteriano *in vitro* del extracto alcohólico de *prosopis pallida* (algarrobo) sobre *enterococcus faecalis* atcc 29212. Peru; 2017.
18. Gamarra K. Efectividad del Alcohol Isopropílico, Hipoclorito de Sodio, Ácido Peracético y Clorexhidina en la desinfección de conos de gutapercha expuestos a *Enterococcus faecalis* ATCC (29212).

19. García F. Efecto in vitro de la desinfección de conos de gutapercha con agentes químicos: Hipoclorito de sodio 5.25%, gluconato de clorhexidina 2% y alcohol etílico 70%. Perú; 2012.
20. Guillerno B, Bornas A. efecto inhibitorio del extracto de caesalpina espinosa (tara) al 60%, sobre el cultivo in vitro de *enterococcus faecalis.* Revista Médica Basadrina 2013; 7(1): 31-35.

ANEXOS

Anexo 1. Autorización para desarrollo de prueba piloto



UNIVERSIDAD SEÑOR DE SIPÁN

Especie valorada
S/ 20.00

FORMATO DE SOLICITUD

Solicita: Donación Capa Enterococcus faecalis

Señor (a), Srta.:
Dr. Urtecho Vera Pablo
Cuyan Milián Mary con DNI N° 74343386
(Nombres y Apellidos del solicitante)

Email: [illegible] Teléfono: [illegible] Dirección: [illegible]

Ante Ud. Con el debido respeto expongo lo siguiente:

Que en mi condición de Estudiante de estomatología del X ciclo.
(Padre – Docente – Alumno – Especialidad – Ciclo)

Recurro a tu honorable despacho para solicitarle lo siguiente:

La Donación de la Capa Enterococcus faecalis y el uso de la [illegible] en el área de investigación de la facultad de ciencias de la Salud, por motivo de la prueba piloto que estoy realizando en mi proyecto de tesis que titula: "Comparación [illegible] entre el efecto del extracto hidroetanólico de semilla de Tara, [illegible] 5.25% y [illegible] 2% en la desinfección de [illegible] con Enterococcus F"

Por lo expuesto, agradeceré ordenar a quien corresponda se atienda mi petición por ser de justicia.

Chiclayo, 13 de Junio 2018

UNIVERSIDAD SEÑOR DE SIPÁN – FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD – DECANO – CHICLAYO PERÚ

Firma del Solicitante

UNIV. SEÑOR DE SIPÁN S.A.C. – FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD – RECIBIDO – 13 JUN 2018 – 3:58pm

Anexos:
a.
b.
c.

UNIVERSIDAD SEÑOR DE SIPÁN S.A.C.

Anexo 2. Constancia de realización de prueba Piloto.

UNIVERSIDAD SEÑOR DE SIPÁN

SOLICITUD DE PERMISO

Señor:

Jorge Luis Leiva Piedra

Yo Mary Cuyzo Milian Con DNI N° 74348386

Email cmilianmary@crece.uss.edu.pe Teléfono 927883112

Me dirijo a usted en condición de alumna(o) de la escuela de estomatología del X ciclo, con el fin de solicitarle permiso para el uso del parque tecnológico del vicerrectorado de investigación, por el motivo de realizar mi estudio de investigación que tiene como título

"Comparación in vitro entre el efecto del extracto hidroetanólico de semilla de Caesalpinia Spinosa (Tara), Hipoclorito 0.25 % y gluconato de clorhexidina 2% en la desinfección de conos de gutapercha contaminados con Enterococcus Faecalis ATCC 29212"

Chiclayo, 15 de junio del 2018

Firma del solicitante

Firma del ingeniero

Anexo 3. Declaración jurada especialista en Microbiología

DECLARACIÓN JURADA

Yo, **MIGUEL ANGEL RUIZ BARRUETO**, de Nacionalidad PERUANA con DNI N° **42814146**, de Profesión **BIÓLOGO-MICROBIÓLOGO** y colegiatura C.B.P N° **8256**, Maestro en Ciencias con mención en Microbiología Clínica y doctorando en Ciencias Biomédicas, despeñándome actualmente como Docente Ordinario Auxiliar Tiempo Completo y Coordinador de Investigación en la Escuela de Estomatología de la Universidad César Vallejo, Declaro bajo juramento:

Que en mi condición de especialista en el tema he asesorado y supervisado a la Srta. **Mary Elizabeth Cuyán Milián** en la ejecución de su Proyecto de Tesis titulado: **"COMPARACIÓN ENTRE EL EFECTO DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE SEMILLAS DE Caesalpinia spinosa (TARA), HIPOCLORITO AL 5,25% Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2% EN LA DESINFECCIÓN *IN VITRO* DE CONOS DE GUTAPERCHA CONTAMINADOS CON *Enterococcus faecalis* ATCC 29212".**

La ejecución fue solventada por la estudiante y ha sido desarrollada cumpliendo rigurosamente con todos los requisitos Metodológicos y Procedimentales requeridos en el tema en mención. Fue llevada a cabo entre el 01 y 03 de octubre del año 2018 en el Laboratorio de Microbiología, de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad César Vallejo, Piura.

Me afirmo y me ratifico en lo expresado, en señal de lo cual firmo y coloco mi huella digital en el presente documento en la ciudad de Piura, a los 04 días del mes de octubre del año 2018.

MIGUEL ANGEL RUIZ BARRUETO
M.Sc. Biólogo-Microbiólogo
Candidato a Doctor en Ciencias Biomédicas
D.N.I. 42814146 - C.B.P. 8256

Anexo 4. Certificado de identificación de planta *Caesalpinia Spinosa* (Tara)

HERBARIUM PIURENSE
Universidad Nacional de Piura

Constancia Nº 025-2018

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

CONSTANCIA

Que la Sra. Cuyán Milián Mary Elizabeth, estudiante del 10mo ciclo de la Escuela de Estomatología de la Universidad Señor de Sipán - Chiclayo, identificada con DNI Nº 74348386, con domicilio legal en Av. Panamericana 778 - Pacanguilla, Chepén. Alcanzó una muestra botánica a este despacho para ser determinada en esta institución, manifestando que es para la realización de su tesis titulada: Comparación entre el efecto del extracto hidroetanólico de semillas de *Caesalpinia spinosa* (tara), hipoclorito al 5,25% y gluconato de clorhexidina al 2% en la desinfección *in vitro* de conos de gutapercha contaminados con *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 La muestra examinada resultó ser: ***Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze. PAPAVERACEAE "tara"** y tiene la siguiente posición taxonómica, según sistema de clasificación de Cronquist (1988):

División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Fabales
Familia: Caesalpiniaceae
Género: *Caesalpinia*
Especie: *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze.

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

Piura, 02 de octubre del 2018

HERBARIUM PIURENSE DIRECTOR UNIVERSIDAD NACIONAL - PIURA

Dr. Manuel Charcape Ravelo

c.c. Herbarium Piurense.

https://www.facebook.com/herbarium.piurense

Anexo 5. Obtención del extracto Hidroetanólico de *Caesalpinia Spinosa* (Tara)

1. Material vegetal en maceración.
2. Proceso de filtración de material vegetal macerado.
3. Extracto alcohólico filtrado.
4. Evaporación del solvente mediante exposición de extracto en placa.
5. Extracto seco en tubo de ensayo.

Anexo 6. Preparación de medios de cultivo para experimentación.

1. Foto 1 y 2 pesado del medio de cultivo Agar soya-tripticasa en balanza analítica.
2. Foto 3 incorporando el medio de cultivo en el matraz de preparación.
3. Foto 4. Hidratación del medio de cultivo.
4. Foto 5. Medio de cultivo esterilizado en autoclave y listo para ser servido en placas Petri estériles.

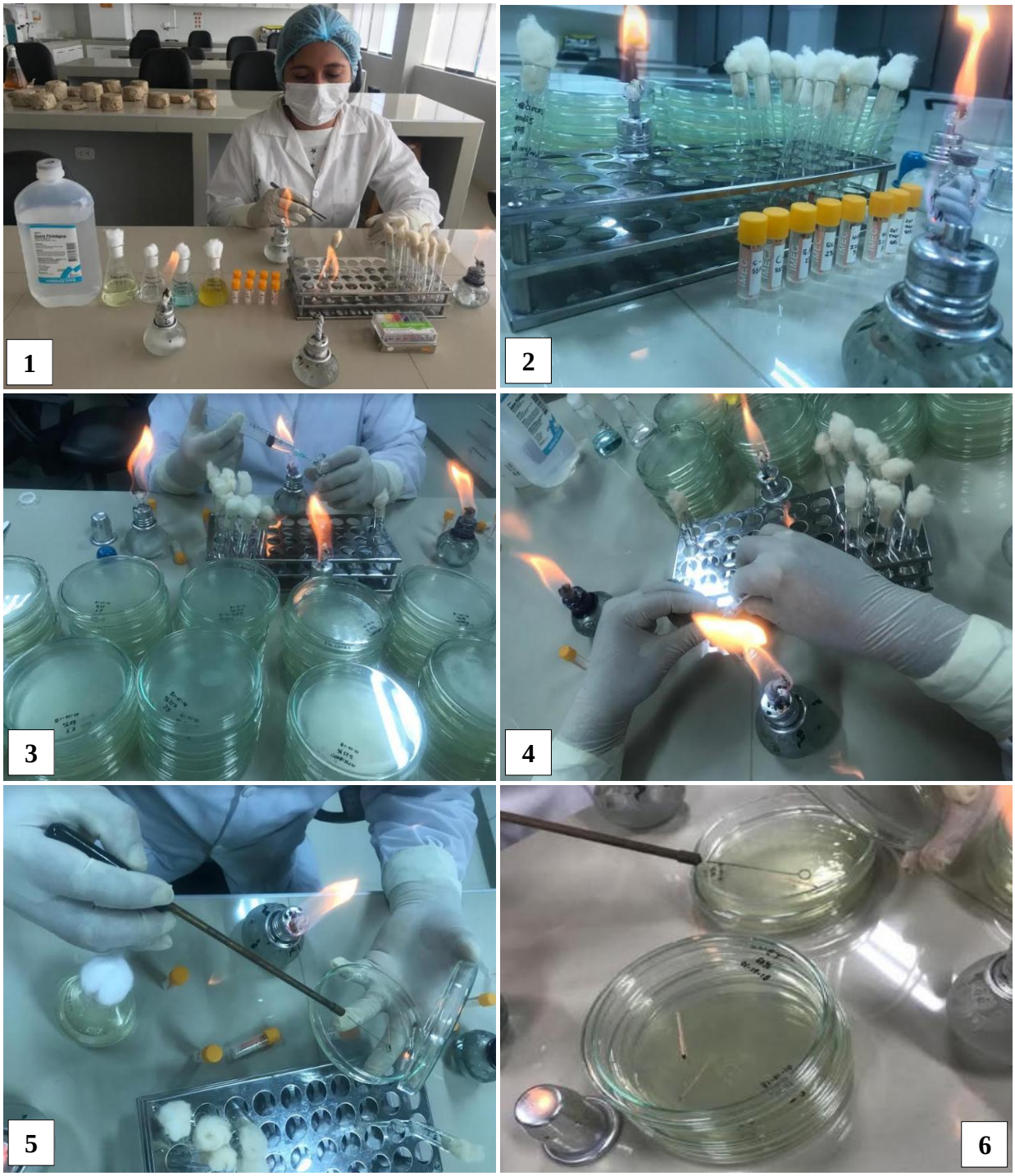
Anexo 7. Servida de medios de cultivo y rotulación de unidades de ensayo.

1. Campo estéril para servir el medio de cultivo estéril en las placas de Petri.
2. Placas servidas con medio de cultivo soya-tripticasa estéril.
3. Rotulación de placas servidas con medio de cultivo.

Anexo 8. Preparación de los sistemas de ensayo, para la experimentación.

1. Foto 1, 2 y 3. Colocación de conos de gutapercha en microtubos para experimentación.
2. Foto 4. Sistemas preparados y listos para la exposición a las condiciones de experimentación.

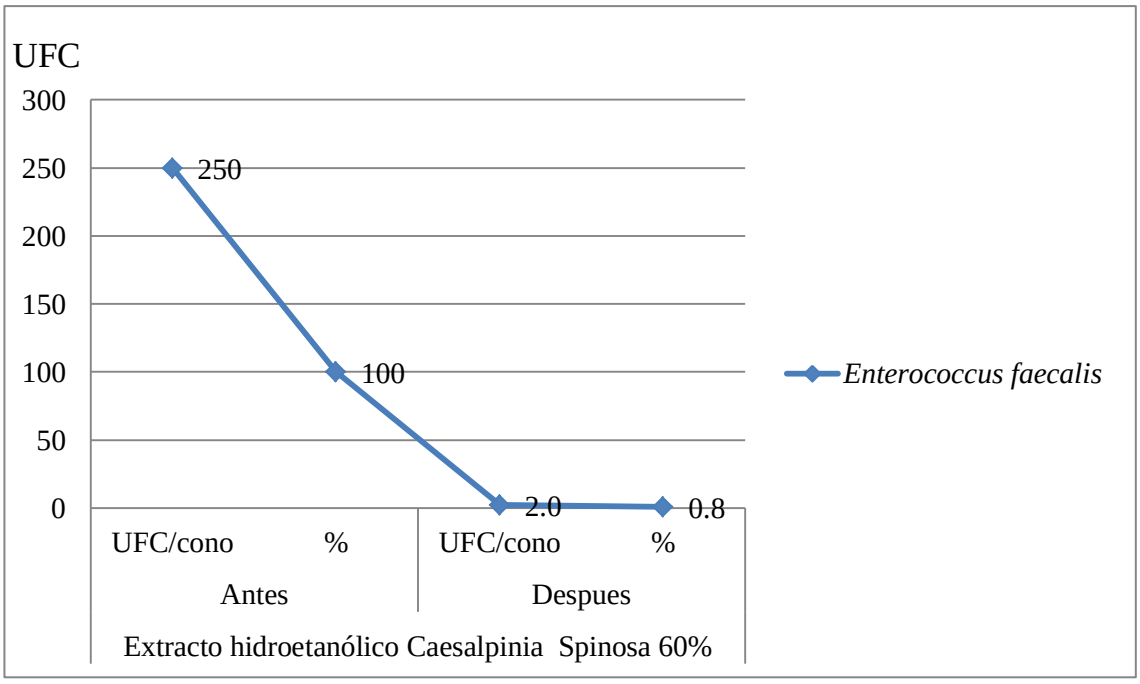
Anexo 9. Procesamiento de muestras y desarrollo de protocolo experimental.



1. Foto 1. Materiales, reactivos y condiciones para el inicio del procesamiento de las muestras.
2. Foto 2, 3 y 4. Contaminación y desinfección de conos de gutapercha.
3. Foto 5 y 6. Siembra de los conos de gutapercha después del proceso de desinfección.

Anexo 10. Resultados recolectados.

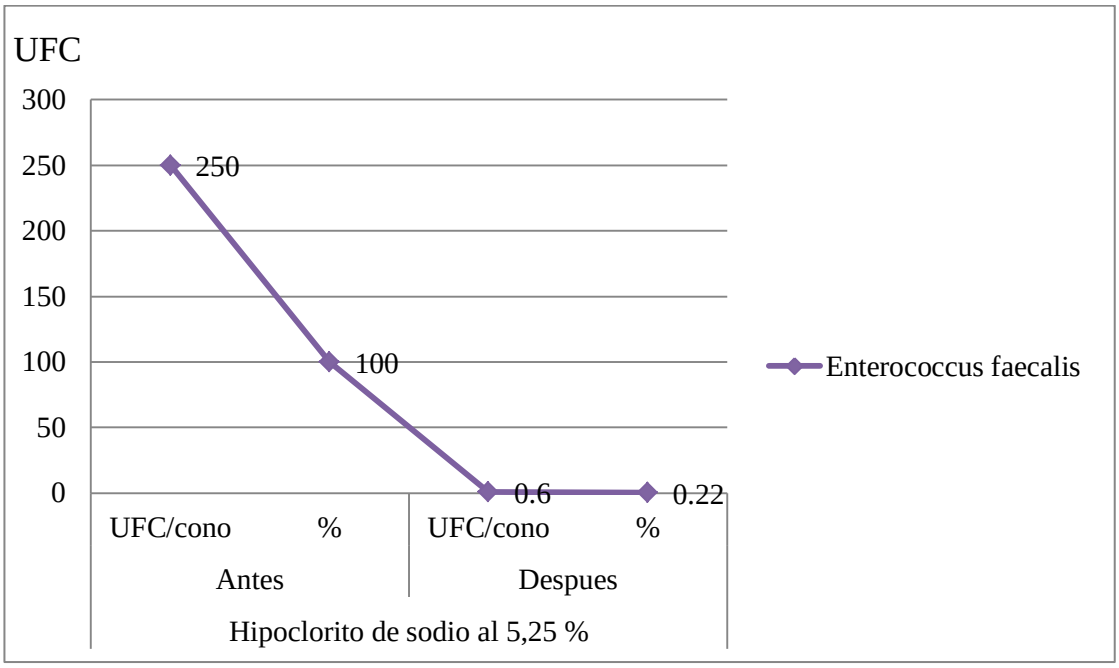
Figura 1. Efecto desinfectante *in vitro* del extracto hidroetanólico de semilla de *Caesalpinia spinosa* (tara) de conos de gutapercha contaminados con *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.



Fuente: Base de datos investigador.

La presente figura muestra que los conos de gutapercha presentaron antes de la desinfección una concentración bacteriana de 250 UFC/cono, equivalente al 100 %. Se observa que después de la desinfección con el extracto hidroetanólico de semilla de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 60% solo se recuperó el 0.8% de la carga inicial. Lo que indica un efecto inhibitorio del 99.2%.

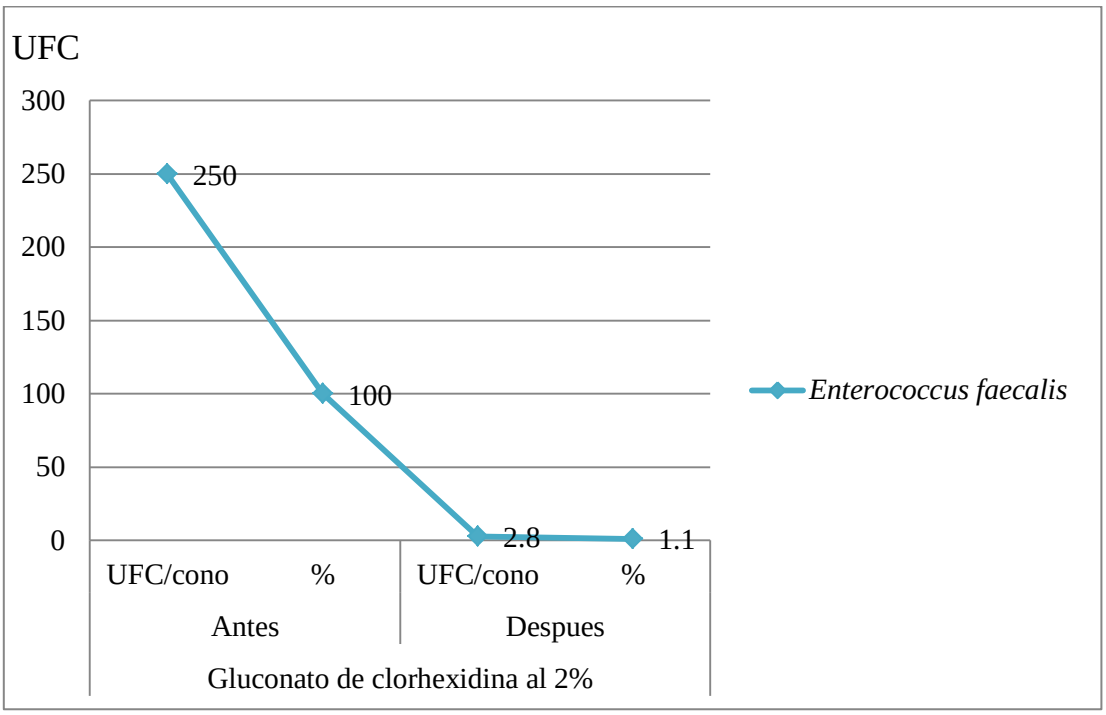
Figura 2. Efecto desinfectante *in vitro* del hipoclorito de sodio al 5,25% en conos de gutapercha contaminados con Enterococcus faecalis ATCC 29212.



Fuente: Base de datos investigador.

La presente figura muestra que los conos de gutapercha presentaron antes de la desinfección una concentración bacteriana de 250 UFC/cono, equivalente al 100%. Se observa que después de la desinfección con hipoclorito de sodio al 5.25% solo se recuperó el 0.22% de la carga inicial. Lo que indica un efecto inhibitorio del 99.78%.

Figura 3. Efecto desinfectante *in vitro* del gluconato de clorhexidina al 2% en conos de gutapercha contaminados con *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.



Fuente: Base de datos investigador.

La presente figura muestra que los conos de gutapercha presentaron antes de la desinfección una concentración bacteriana de 250 UFC/cono, equivalente al 100%. Se observa que después de la desinfección con Gluconato de clorhexidina al 2%, solo se recuperó el 1.1% de la carga inicial. Lo que indica un efecto inhibitorio del 98.9%.

Recuento de UFC/cono de *Enterococcus faecalis*					
Nº	**Cono estéril**	**Cono contaminado**	**Gluconato de Clorhexidina 2%**	**Hipoclorito de sodio 5.25 %**	**Extracto *C. Spinosa* 60%**
1	0	250	6	1	3
2	0	250	4	0	1
3	0	250	2	0	2
4	0	250	2	2	4
5	0	250	1	0	2
6	0	250	5	2	2
7	0	250	1	0	1
8	0	250	1	1	3
9	0	250	7	0	1
10	0	250	1	0	1
11	0	250	9	0	3
12	0	250	2	0	2
13	0	250	2	1	3
14	0	250	1	0	3
15	0	250	3	0	1
16	0	250	2	0	1
17	0	250	4	3	1
18	0	250	2	0	1
19	0	250	0	0	2
20	0	250	5	0	4
21	0	250	1	1	2
22	0	250	9	0	3
23	0	250	2	0	2
24	0	250	2	2	3
25	0	250	1	0	3
23	0	250	3	0	1
27	0	250	2	3	1
28	0	250	4	0	1
29	0	250	2	1	1
30	0	250	0	0	2
	0	**250**	**2,81**	**0,55**	**2,0**

Anexo 11. Procesamiento estadístico de los datos en SPSS V.24

7.1. Pruebas de normalidad de las variables

```
EXAMINE VARIABLES=ENTEROCOCCUS_DESPUES BY DESINFECTANTES
/PLOT BOXPLOT NPPLOT/COMPARE GROUPS/STATISTICS DESCRIPTIVES
/CINTERVAL 95 /MISSING LISTWISE /NOTOTAL.
```

Explorar

Notas

Salida creada		27-OCT-2018 02:48:30
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo	Conjunto_de_datos2
	Filtro	<ninguno>
	Ponderación	<ninguno>
	Segmentar archivo	<ninguno>
	N de filas en el archivo de datos de trabajo	93
Manejo de valor perdido	Definición de ausencia	Los valores perdidos definidos por el usuario para variables dependientes se tratan como perdidos.
	Casos utilizados	Los estadísticos se basan en casos sin valores perdidos para ninguna de la variable dependiente o factor utilizado.
Sintaxis		EXAMINE VARIABLES=ENTEROCOCCUS_DESPUES BY DESINFECTANTES /PLOT BOXPLOT NPPLOT /COMPARE GROUPS /STATISTICS DESCRIPTIVES /CINTERVAL 95 /MISSING LISTWISE /NOTOTAL.
Recursos	Tiempo de procesador	00:00:01,64
	Tiempo transcurrido	00:00:01,64

Desinfectantes utilizados en odontología

Resumen de procesamiento de casos

		Casos			
		Válido		Perdidos	
	Desinfectantes utilizados en odontología	N	Porcentaje	N	Porcentaje
Cono desinfectado	HIPOCLORITO	31	100,0%	0	0,0%
	CLOREXIDINA	31	100,0%	0	0,0%
	EXTRACTO TARA	31	100,0%	0	0,0%

Resumen de procesamiento de casos

		Casos	
		Total	
	Desinfectantes utilizados en odontología	N	Porcentaje
Cono desinfectado	HIPOCLORITO	31	100,0%
	CLOREXIDINA	31	100,0%
	EXTRACTO TARA	31	100,0%

Descriptivos

	Desinfectantes utilizados en odontología			Estadístico
Cono desinfectado	HIPOCLORITO	Media		,5484
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	,2090
			Límite superior	,8877
		Media recortada al 5%		,4427
		Mediana		,0000
		Varianza		,856
		Desviación estándar		,92516
		Mínimo		,00
		Máximo		3,00
		Rango		3,00
		Rango intercuartil		1,00
		Asimetría		1,604
		Curtosis		1,549
	CLOREXIDINA	Media		2,8065
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	1,9414
			Límite superior	3,6715
		Media recortada al 5%		2,6183
		Mediana		2,0000
		Varianza		5,561
		Desviación estándar		2,35824
		Mínimo		,00
		Máximo		9,00
		Rango		9,00
		Rango intercuartil		3,00
		Asimetría		1,389
		Curtosis		1,444
	EXTRACTO TARA	Media		2,0000
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	1,6456
			Límite superior	2,3544
		Media recortada al 5%		1,9444
		Mediana		2,0000
		Varianza		,933
		Desviación estándar		,96609
		Mínimo		1,00
		Máximo		4,00
		Rango		3,00
		Rango intercuartil		2,00
		Asimetría		,474
		Curtosis		-,894

Descriptivos

	Desinfectantes utilizados en odontología			Error estándar
Cono desinfectado	HIPOCLORITO	Media		,16616
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	
			Límite superior	
		Media recortada al 5%		
		Mediana		
		Varianza		
		Desviación estándar		
		Mínimo		
		Máximo		

		Rango		
		Rango intercuartil		
		Asimetría		,421
		Curtosis		,821
	CLOREXIDINA	Media		,42355
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	
			Límite superior	
		Media recortada al 5%		
		Mediana		
		Varianza		
		Desviación estándar		
		Mínimo		
		Máximo		
		Rango		
		Rango intercuartil		
		Asimetría		,421
		Curtosis		,821
	EXTRACTO TARA	Media		,17352
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	
			Límite superior	
		Media recortada al 5%		
		Mediana		
		Varianza		
		Desviación estándar		
		Mínimo		
		Máximo		
		Rango		
		Rango intercuartil		
		Asimetría		,421
		Curtosis		,821

Pruebas de normalidad

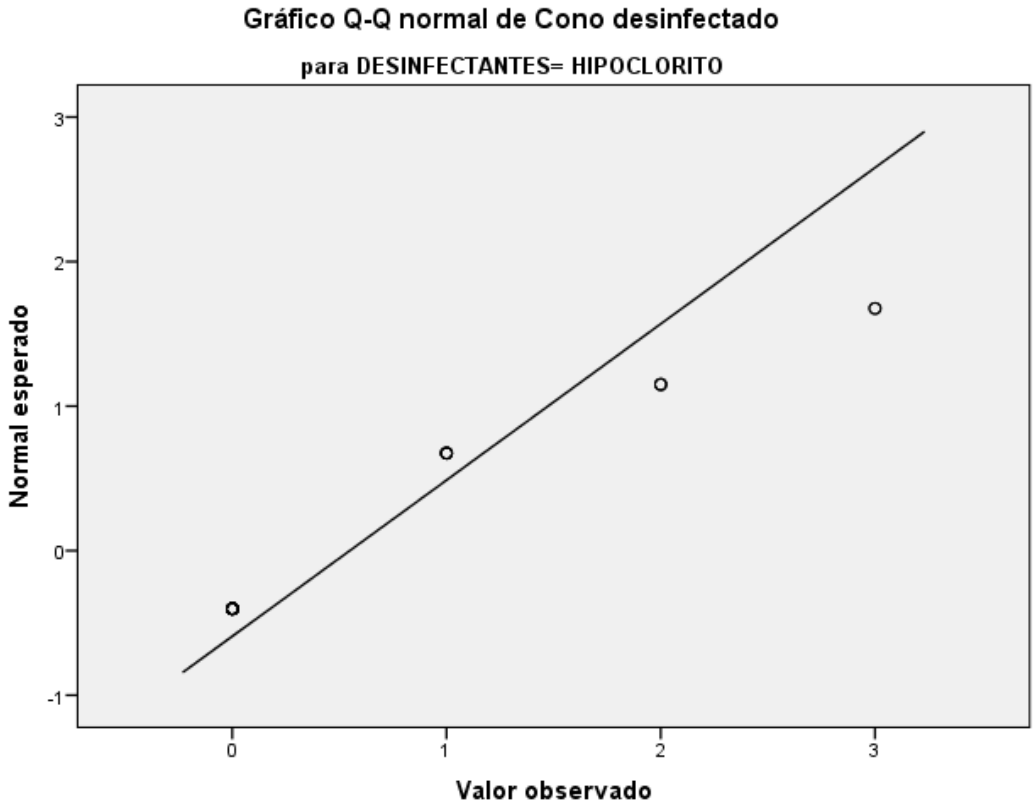
	Desinfectantes utilizados en odontología	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico
Cono desinfectado	HIPOCLORITO	,401	31	,000	,647
	CLOREXIDINA	,279	31	,000	,832
	EXTRACTO TARA	,237	31	,000	,838

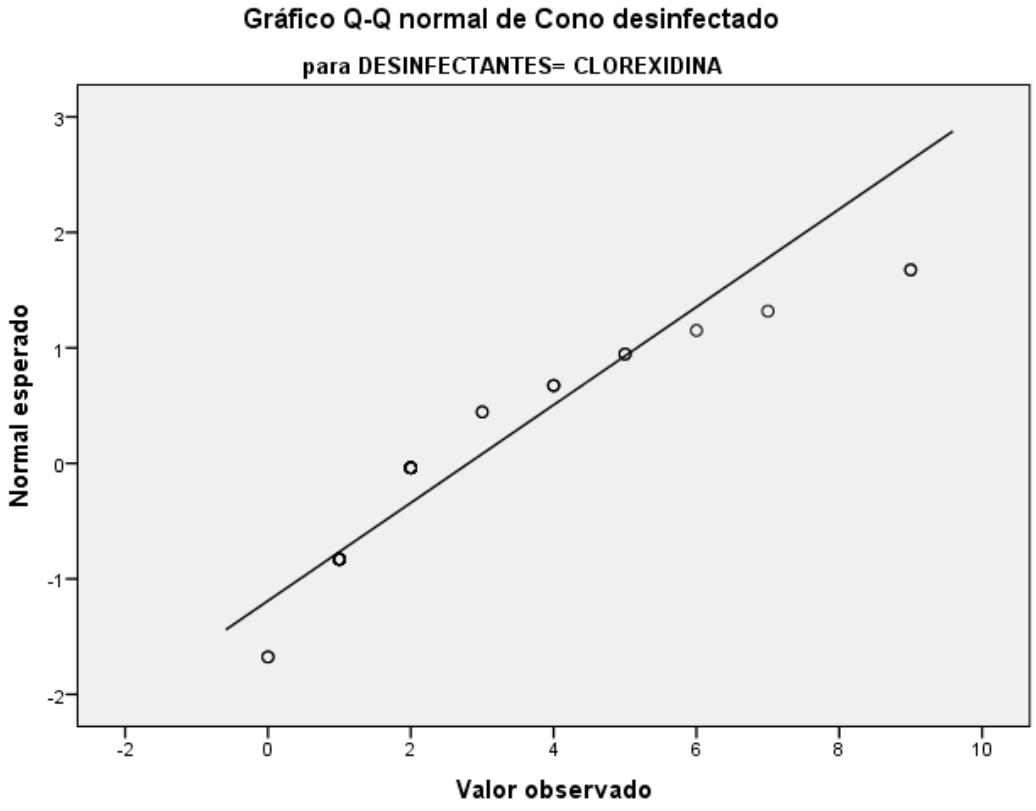
Pruebas de normalidad

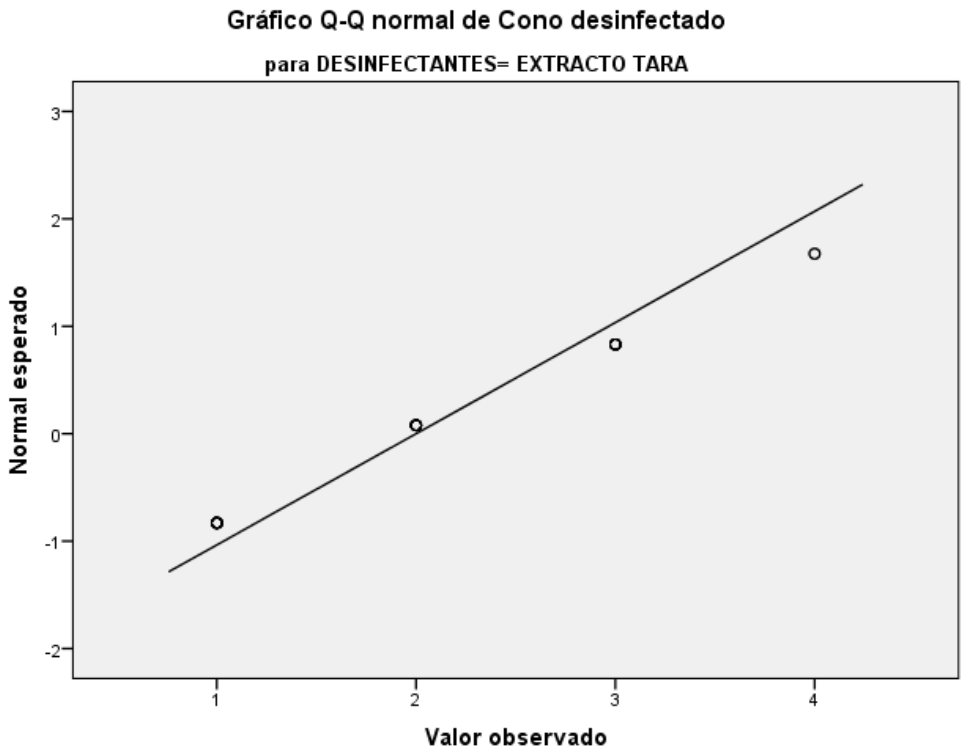
		Shapiro-Wilk[a]	
	Desinfectantes utilizados en odontología	gl	Sig.
Cono desinfectado	HIPOCLORITO	31	,000
	CLOREXIDINA	31	,000
	EXTRACTO TARA	31	,000

a. Corrección de significación de Lilliefors

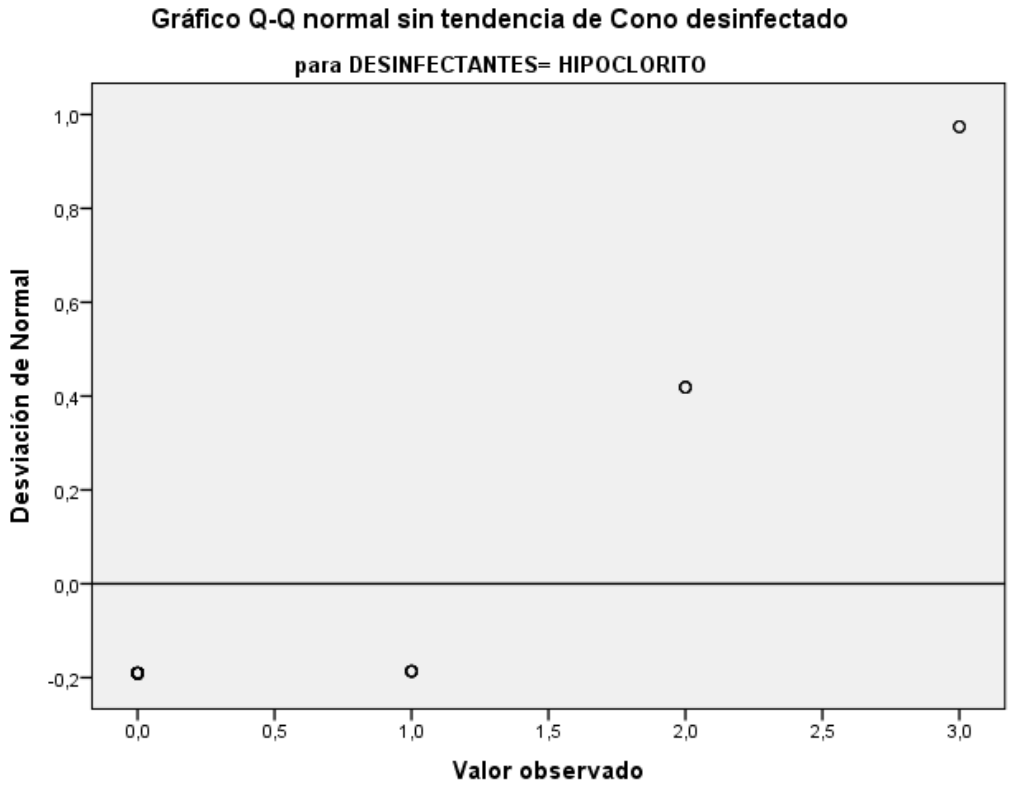
Cono desinfectado
Gráficos Q-Q normales







Gráficos Q-Q normales sin tendencia



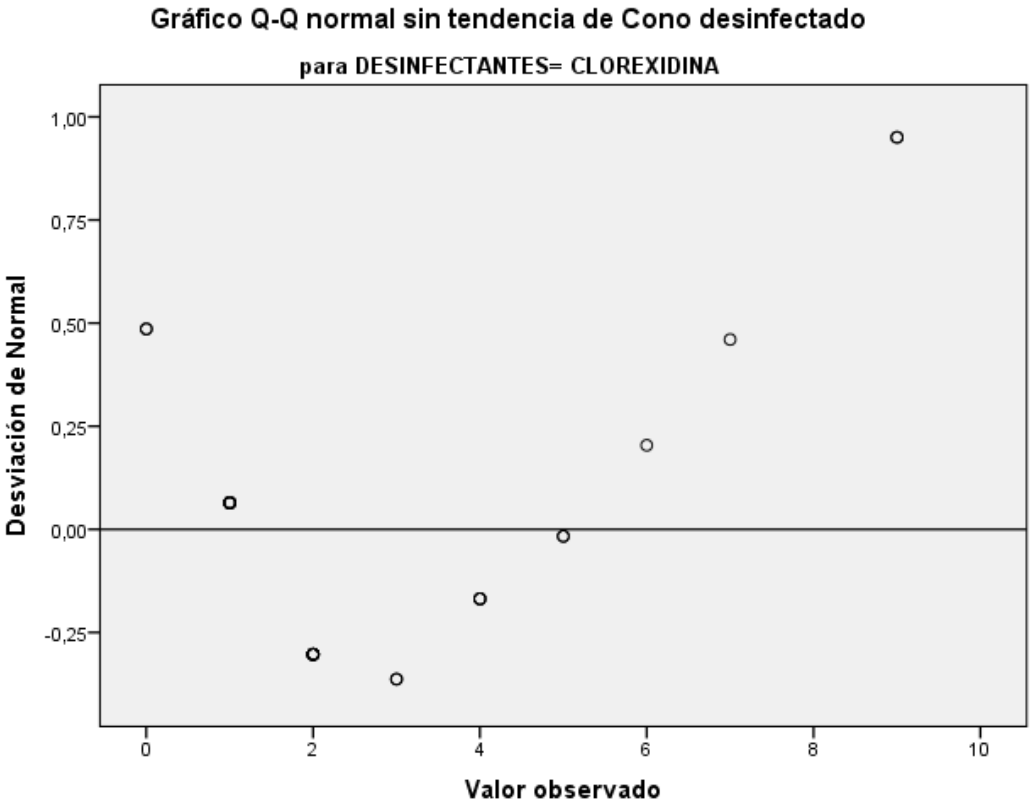


Gráfico Q-Q normal sin tendencia de Cono desinfectado
para DESINFECTANTES= CLOREXIDINA
Desviación de Normal
1,00
0,75
0,50
0,25
0,00
-0,25
0
2
4
6
8
10
Valor observado

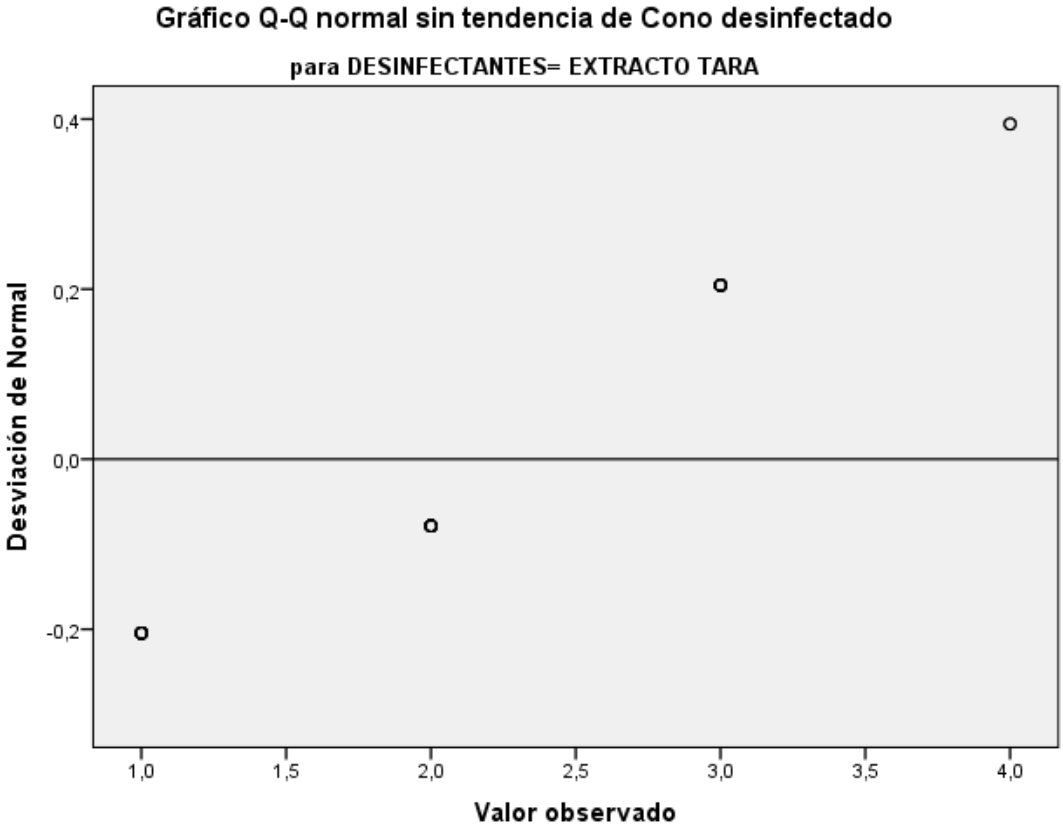
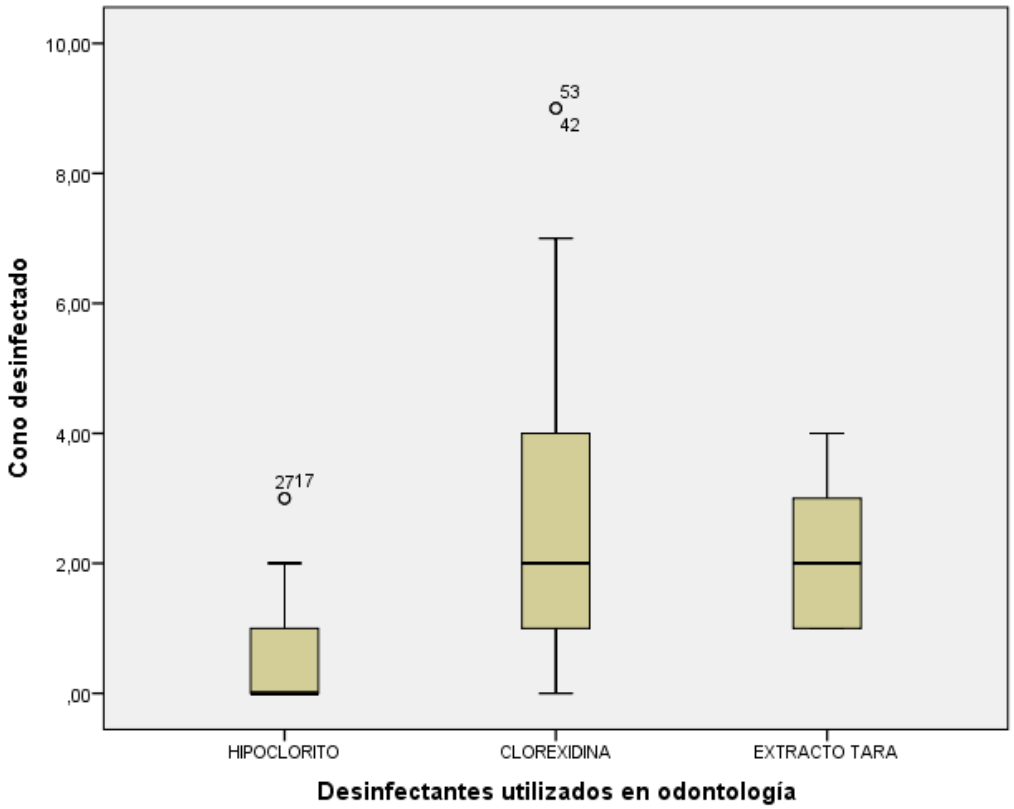


Gráfico Q-Q normal sin tendencia de Cono desinfectado
para DESINFECTANTES= EXTRACTO TARA
Desviación de Normal
0,4
0,2
0,0
-0,2
1,0
1,5
2,0
2,5
3,0
3,5
4,0
Valor observado



7.2. Pruebas paramétricas y no paramétricas.

NPAR TESTS/K-W=Diferencia BY DESINFECTANTES (1 3)/STATISTICS DESCRIPTIVES /MISSING ANALYSIS.

Pruebas NPar

Estadísticos descriptivos					
	N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
COMPUTE Diferencia=ENTEROCOCCUS_ANTES - ENTEROCOCCUS_DESPUES	90	248,1889	1,82919	241,00	250,00
Desinfectantes utilizados en odontología	90	2,00	,821	1	3

Prueba de Kruskal-Wallis

Rangos			
	Desinfectantes utilizados en odontología	N	Rango promedio
COMPUTE Diferencia=ENTEROCOCCUS_ANTES - ENTEROCOCCUS_DESPUES	HIPOCLORITO	30	66,98
	CLOREXIDINA	30	32,58
	EXTRACTO TARA	30	36,93
	Total	90	

Estadísticos de prueba[a,b]	
	COMPUTE Diferencia=ENTEROCOCCUS_ANTES - ENTEROCOCCUS_DESPUES
Chi-cuadrado	32,427
gl	2
Sig. asintótica	,000
a. Prueba de Kruskal Wallis	
b. Variable de agrupación: Desinfectantes utilizados en odontología	

```
NPAR TESTS
 /M-W= ENTEROCOCCUS_ANTES ENTEROCOCCUS_DESPUES BY DESINFECTANTES (1 3)
 /STATISTICS=DESCRIPTIVES /MISSING ANALYSIS.
```

Pruebas NPar

Estadísticos descriptivos					
	N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
Cono contaminado con Enterococcus faecalis ATCC 29212	90	250,00	,000	250	250
Cono desinfectado	90	1,8111	1,82919	,00	9,00
Desinfectantes utilizados en odontología	90	2,00	,821	1	3

Prueba de Mann-Whitney

Rangos				
	Desinfectantes utilizados en odontología	N	Rango promedio	Suma de rangos
Cono contaminado con Enterococcus faecalis ATCC 29212	HIPOCLORITO	30	30,50	915,00
	EXTRACTO TARA	30	30,50	915,00
	Total	60		
Cono desinfectado	HIPOCLORITO	30	19,70	591,00
	EXTRACTO TARA	30	41,30	1239,00
	Total	60		

Estadísticos de prueba[a]		
	Cono contaminado con Enterococcus faecalis ATCC 29212	Cono desinfectado
U de Mann-Whitney	450,000	126,000
W de Wilcoxon	915,000	591,000
Z	,000	-4,968
Sig. asintótica (bilateral)	1,000	,000
a. Variable de agrupación: Desinfectantes utilizados en odontología		

NPAR TESTS /M-W= Diferencia BY DESINFECTANTES(1 3)/STATISTICS=DESCRIPTIVES /MISSING ANALYSIS.

Pruebas NPar

Estadísticos descriptivos					
	N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
COMPUTE Diferencia=ENTEROCOCCUS_ANTES - ENTEROCOCCUS_DESPUES	90	248,1889	1,82919	241,00	250,00
Desinfectantes utilizados en odontología	90	2,00	,821	1	3

Prueba de Mann-Whitney

Rangos				
	Desinfectantes utilizados en odontología	N	Rango promedio	Suma de rangos
COMPUTE Diferencia=ENTEROCOCCUS_ANTES - ENTEROCOCCUS_DESPUES	HIPOCLORITO	30	41,30	1239,00
	EXTRACTO TARA	30	19,70	591,00
	Total	60		

Estadísticos de prueba[a]	
	COMPUTE Diferencia=ENTEROCOCCUS_ANTES - ENTEROCOCCUS_DESPUES
U de Mann-Whitney	126,000
W de Wilcoxon	591,000
Z	-4,968
Sig. asintótica (bilateral)	,000
a. Variable de agrupación: Desinfectantes utilizados en odontología	

ONEWAY ENTEROCOCCUS_ANTES ENTEROCOCCUS_DESPUES BY DESINFECTANTES /MISSING ANALYSIS/POSTHOC=DUNCAN ALPHA(0.05).

Unidireccional

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Cono contaminado con Enterococcus faecalis ATCC 29212	Entre grupos	,000	2	,000	.	.
	Dentro de grupos	,000	87	,000		
	Total	,000	89			
Cono desinfectado	Entre grupos	80,956	2	40,478	16,241	,000
	Dentro de grupos	216,833	87	2,492		
	Total	297,789	89			

Pruebas post hoc
Subconjuntos homogéneos

Cono desinfectado				
Duncan[a]				
Desinfectantes utilizados en odontología	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
HIPOCLORITO	30	,5667		
EXTRACTO TARA	30		2,0000	
CLORHEXIDINA	30			2,8667
Sig.		1,000	1,000	1,000
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.				
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 30,000.				

```
ONEWAY ENTEROCOCCUS_DESPUES BY DESINFECTANTES
  /MISSING ANALYSIS
  /POSTHOC=DUNCAN ALPHA(0.05).
```

Unidireccional

ANOVA					
Cono desinfectado					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	80,956	2	40,478	16,241	,000
Dentro de grupos	216,833	87	2,492		
Total	297,789	89			

Pruebas post hoc
Subconjuntos homogéneos

Cono desinfectado				
Duncan[a]				
Desinfectantes utilizados en odontología	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
HIPOCLORITO	30	,5667		
EXTRACTO TARA	30		2,0000	
CLOREXIDINA	30			2,8667
Sig.		1,000	1,000	1,000
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.				
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 30,000.				

```
NPAR TESTS
  /K-W=ENTEROCOCCUS_ANTES ENTEROCOCCUS_DESPUES BY DESINFECTANTES (1 3)
  /STATISTICS DESCRIPTIVES/MISSING ANALYSIS.
```

Pruebas NPar

Estadísticos descriptivos					
	N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
Cono contaminado con Enterococcus faecalis ATCC 29212	90	250,00	,000	250	250
Cono desinfectado	90	1,8111	1,82919	,00	9,00
Desinfectantes utilizados en odontología	90	2,00	,821	1	3

Prueba de Kruskal-Wallis

Rangos			
	Desinfectantes utilizados en odontología	N	Rango promedio
Cono contaminado con Enterococcus faecalis ATCC 29212	HIPOCLORITO	30	45,50
	CLOREXIDINA	30	45,50
	EXTRACTO TARA	30	45,50
	Total	90	
Cono desinfectado	HIPOCLORITO	30	24,02
	CLOREXIDINA	30	58,42
	EXTRACTO TARA	30	54,07
	Total	90	

Estadísticos de prueba[a,b]		
	Cono contaminado con Enterococcus faecalis ATCC 29212	Cono desinfectado
Chi-cuadrado	,000	32,427
gl	2	2
Sig. asintótica	1,000	,000
a. Prueba de Kruskal Wallis		
b. Variable de agrupación: Desinfectantes utilizados en odontología		

ONEWAY Diferencia BY DESINFECTANTES /MISSING ANALYSIS /POSTHOC=DUNCAN ALPHA(0.05).

Unidireccional

ANOVA					
COMPUTE Diferencia=ENTEROCOCCUS_ANTES - ENTEROCOCCUS_DESPUES					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	80,956	2	40,478	16,241	,000
Dentro de grupos	216,833	87	2,492		
Total	297,789	89			

Pruebas post hoc
Subconjuntos homogéneos

COMPUTE Diferencia=ENTEROCOCCUS_ANTES - ENTEROCOCCUS_DESPUES				
Duncan[a]				
Desinfectantes utilizados en odontología	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
CLOREXIDINA	30	247,1333		
EXTRACTO TARA	30		248,0000	
HIPOCLORITO	30			249,4333
Sig.		1,000	1,000	1,000
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.				
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 30,000.				

```
*Nonparametric Tests: Independent Samples. NPTESTS /INDEPENDENT
TEST (ENTEROCOCCUS_DESPUES) GROUP (DESINFECTANTES)
KRUSKAL_WALLIS(COMPARE=PAIRWISE)/MISSING SCOPE=ANALYSIS
USERMISSING=EXCLUDE /CRITERIA ALPHA=0.05 CILEVEL=95.
```

Pruebas no paramétricas

Notas

Salida creada		27-OCT-2018 03:06:48
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo	Conjunto_de_datos2
	Filtro	<ninguno>
	Ponderación	<ninguno>
	Segmentar archivo	<ninguno>
	N de filas en el archivo de datos de trabajo	93
Sintaxis		NPTESTS /INDEPENDENT TEST (ENTEROCOCCUS_DESPUES) GROUP (DESINFECTANTES) KRUSKAL_WALLIS(COMPARE=PAIRWISE) /MISSING SCOPE=ANALYSIS USERMISSING=EXCLUDE /CRITERIA ALPHA=0.05 CILEVEL=95.
Recursos	Tiempo de procesador	00:00:00,19
	Tiempo transcurrido	00:00:00,22

Resumen de contrastes de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de Cono desinfectado es la misma entre las categorías de Desinfectantes utilizados en odontología.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,000	Rechace la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significancia es ,05.