

Universidad Católica de Santa María

Facultad de Odontología

Escuela Profesional de Odontología



EFICACIA ANTIMICROBIANA IN VITRO DEL QUITOSANO Y LA CLORHEXIDINA AL 2% EN LA INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO DEL *ENTEROCOCCUS FAECALIS*. AREQUIPA, 2019.

Tesis presentada por el Bachiller:

Quispe Luque, Juan Vladimir

Para optar el Título Profesional de

Cirujano Dentista

Asesor:

Dr. Figueroa Banda Alberto

Arequipa- Perú

2019



Universidad Católica de Santa María

(51 54) 382038 Fax:(51 54) 251213 ucsm@ucsm.edu.pe <http://www.ucsm.edu.pe> Apartado: 1350

DR.(A) HUGO TEJADA PRADELL

BOLETA DE DICTAMEN DE BORRADOR DE TESIS Nro 086

Vista la solicitud que presenta don (ña) **JUAN VLADIMIR QUISPE LUQUE** a fin de sobre el dictamen de la Tesis titulada **"EFICACIA ANTIMICROBIANA IN VITRO DEL QUITOSANO Y LA CLORHEXIDINA AL 2% EN LA INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO DEL ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA 2019"** y en concordancia con la Ley Universitaria 30220, y el Art. 13 del Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Odontología, se nombra SEGUNDO Y TERCER JURADO DICTAMINADOR para que en el lapso de ocho a diez días, se sirvan evaluar el dictamen correspondiente

DR.(A) HUGO TEJADA PRADELL
DR.(A) RUTH ALVAREZ MONGE
DR. (A) GUSTAVO OBANDO PEREDA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

DR. HERBERT GARCIGOS YARGAS
Decano de la Facultad de Odontología

Arequipa, 13 de NOVIEMBRE del 2019

INFORME

Dr. Decano:

*Señalándose realizados los observaciones pertinentes
cumplidos con respecto dictamen favorable al presente.
Bombardear de bien, a fin de que se pueda con la
Tramites pertinentes.*

Atte

Dr. Tejada Pradell

09p. 36-11-19

Arequipa, 2019 _____

2019-11-13
11:26



Universidad Católica de Santa María

(51 54) 382038 Fax:(51 54) 251213 ucsm@ucsm.edu.pe <http://www.ucsm.edu.pe> Apartado: 1350

DR.(A) RUTH ÁLVAREZ MONGE

BOLETA DE DICTAMEN DE BORRADOR DE TESIS Nro 086

Vista la solicitud que presenta don (ña) JUAN VLADIMIR QUISPE LUQUE a fin de sobre el dictamen de la Tesis titulada "EFICACIA ANTIMICROBIANA IN VITRO DEL QUITOSANO Y LA CLORHEXIDINA AL 2% EN LA INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO DEL ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA 2019" y en concordancia con la Ley Universitaria 30220, y el Art. 13 del Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Odontología, se nombra SEGUNDO Y TERCER JURADO DICTAMINADOR para que en el lapso de ocho a diez días, se sirvan evaluar el dictamen correspondiente

DR.(A) HUGO TEJADA PRADELL
DR.(A) RUTH ALVAREZ MONGE
DR. (A) GUSTAVO OBANDO PEREDA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

DR. HUGO TEJADA PRADELL
Decano de la Facultad de Odontología

Arequipa, 13 de NOVIEMBRE del 2019

INFORME

23-11-2019 - Mejoras introducción y resumen
25-11-2019 - Detalles Metodología
26-11-2019 - Ordenar resultados y simplificar conclusiones
28-11-2019 - Sr. Decano:
Visto y Revisado el borrador de tesis "Eficacia antimicrobiana in vitro del Quitosano y la clorhexidina al 2% en la inhibición del crecimiento del Enterococcus faecalis Arequipa 2019" se da pase a sustentación

Arequipa, 2019 November 28

2019-11-13
11:26



Universidad Católica de Santa María

(51 54) 382038 Fax:(51 54) 251213 ucsm@ucsm.edu.pe <http://www.ucsm.edu.pe> Apartado: 1350

DR.(A) GUSTAVO OBANDO PEREDA

BOLETA DE DICTAMEN DE BORRADOR DE TESIS Nro 086

Vista la solicitud que presenta don (ña) **JUAN VLADIMIR QUISPE LUQUE** a fin de sobre el dictamen de la Tesis titulada "EFICACIA ANTIMICROBIANA IN VITRO DEL QUITOSANO Y LA CLORHEXIDINA AL 2% EN LA INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO DEL ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA 2019" y en concordancia con la Ley Universitaria 30220, y el Art. 13 del Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Odontología, se nombra SEGUNDO Y TERCER JURADO DICTAMINADOR para que en el lapso de ocho a diez días, se sirvan evaluar el dictamen correspondiente

DR.(A) HUGO TEJADA PRADELL
DR.(A) RUTH ALVAREZ MONGE
DR. (A) GUSTAVO OBANDO PEREDA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

DR. ROBERTO GALLEGOS VARGAS
Decano de la Facultad de Odontología

Arequipa, 13 de NOVIEMBRE del 2019

INFORME

Se. Decano de Honor Concejo:

Atendiendo revisado el proyecto de tesis del Sr. Juan Quispe y haciendo recaer las observaciones, por favor para su incorporación.

Arequipa, 2019 *03 Diciembre.*

2019-11-13
11:26

DEDICATORIA

Este proyecto está dedicado a las personas que más se han interesado en mi futuro y las cuales me han apoyado en todo momento sin importar las circunstancias, con todo mi amor y afecto se los dedico a mis padres Edwin y Yolanda.



AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por darme la vida, por guiarnos a lo largo de nuestra existencia, ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad.

Gracias a mis padres: Edwin y Yolanda, por ser los principales promotores de un sueño,, por confiar y creer en mis expectativas, por los consejos, valores y principios que me han inculcado

Agradezco a nuestros docentes de la Escuela de odontología de la Universidad Católica de Santa María, por haber compartido sus conocimientos a lo largo de la preparación de nuestra profesión, de manera especial, al Doctor Alberto Figueroa Banda asesor de nuestro proyecto de investigación quien ha guiado con su paciencia, y su rectitud como docente.

RESUMEN

Existen muchas sustancias antimicrobianas usadas ampliamente en odontología para la eliminación de ciertos microorganismos en especial el *Enterococcus faecalis*, microorganismo muy resistente y común en la cavidad oral.

El objetivo del presente estudio fue Comparar la eficacia antibacteriana in vitro del Quitosano y la clorhexidina al 2%, sobre el *Enterococcus faecalis*, basada en estudios anteriores que demuestran la eficacia antibacteriana del Quitosano en sistemas acuosos y tratamientos médicos locales.

La investigación se llevó a cabo en los laboratorios de microbiología de la universidad católica de santa maría, usándose dos grupos experimentales: Quitosano y clorhexidina al 2% sobre una cepa estandarizada de *Enterococcus Faecalis*.

Esta investigación responde a la incógnita del potencial antimicrobiano del Quitosano en el uso odontológico, con el anhelo de contribuir a mejorar el tratamiento antibacteriano contra el *Enterococcus Faecalis*.

El estudio se realizó con una muestra de 15 replicaciones in vitro por grupo, con los que se obtuvieron mediciones antes y después de la aplicación del Quitosano, y la clorhexidina al 2%, a fin de evaluar la eficacia antimicrobiana frente al *Enterococcus Faecalis* entre el Quitosano y la Clorhexidina.

Se realizó un comparativo in vitro transversal, utilizando la técnica de difusión en agar con el método Kirby Bauer. Los halos inhibitorios fueron medidos 24 horas después de la incubación a temperatura de 37°C.

Los resultados sugirieron que el mayor halo inhibitorio del Quitosano frente al *Enterococcus faecalis* fue de 18mm de diámetro y en la clorhexidina al 2% fue de 20mm de diámetro.

En conclusión: la Clorhexidina al 2% tiene mejor eficacia que el Quitosano al 3% frente al *Enterococcus Faecalis*.

Palabras claves:

Quitosano, Clorhexidina, *Enterococcus Faecalis*.

ABSTRACT

There are many antimicrobial substances widely used in dentistry for the elimination of certain microorganisms, especially *Enterococcus faecalis*, a very resistant and common microorganism in the oral cavity.

The objective of the present study was to compare the in vitro antibacterial efficacy of Chitosan and 2% chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*, based on previous studies demonstrating the antibacterial efficacy of Chitosan in aqueous systems and local medical treatments.

The research was carried out in the microbiology laboratories of the Catholic University of Santa Maria, using two experimental groups: Chitosan and 2% chlorhexidine on a standardized strain of *Enterococcus Faecalis*.

This research responds to the unknown potential of Chitosan's antimicrobial potential in dental use, with the desire to contribute to improving antibacterial treatment against *Enterococcus Faecalis*.

The study was carried out with a sample of 15 in vitro replications per group, with which measurements were obtained before and after the application of Chitosan, and 2% chlorhexidine, in order to evaluate the antimicrobial efficacy against *Enterococcus Faecalis* between Chitosan and Chlorhexidine.

A cross-sectional in vitro comparison was performed using the agar diffusion technique with the Kirby Bauer method. Inhibitory halos were measured 24 hours after incubation at a temperature of 37 ° C.

The results suggested that the largest chitosan inhibitory halo against *Enterococcus faecalis* was 18mm in diameter and in 2% chlorhexidine it was 20mm in diameter.

In conclusion: 2% Chlorhexidine has better efficacy than 3% Chitosan against *Enterococcus Faecalis*.

Key words:

Chitosan, Chlorhexidine, *Enterococcus Faecalis*.

INTRODUCCIÓN

El *Enterococcus faecalis* es un coco Gram positivo, microaerófilico y responsable de infecciones comunes en la cavidad oral motivo por el cual se impone la medicación para lograr la reducción de la carga bacteriana existente (1). Varios agentes y/o fármacos han sido propuestos para este fin, siendo los más usados el hidróxido de calcio, la clorhexidina y antibióticos de amplio espectro como la ceftriaxona.

En la literatura reciente se ha venido demostrando la eficacia antibacteriana y antifúngica del Quitosano, en estudios hechos por Cristobal Larez, se demuestra la efectividad antibacteriana en sistemas acuosos del Quitosano.

El Quitosano es un polisacárido natural producido por desacetilación de la quitina, presente en el exoesqueleto de los crustáceos, biocompatible, biodegradable y antibacteriano, además por su amplia distribución en la naturaleza es el segundo polisacárido en abundancia después de la celulosa, es de fácil obtención y bajo costo pues lo podemos encontrar en los caparazones de los crustáceos y cangrejos que abundan en nuestra Fauna (2).

Actualmente se vienen desarrollando nuevas técnicas y materiales odontológicos para contrarrestar a bacterias comunes y resistentes de la cavidad oral como es el *Enterococcus faecalis* (3)

Por esta razón y con antecedentes de la eficacia antimicrobiana del Quitosano, se determinó realizar el presente trabajo de investigación para comprobar la eficacia de este agente novedoso en la inhibición del *Enterococcus faecalis*.

El trabajo de investigación está conformado por: En el Capítulo I: Planeamiento Teórico, el cual incluye: el problema de investigación, objetivos, marco teórico e hipótesis. En el Capítulo II: Planeamiento Operacional, que incluye: Las técnicas, instrumentos y materiales de verificación, campo de verificación, estrategia de investigación y estrategia para manejar resultados. En capítulo III se muestran los resultados, la discusión, las correcciones y las recomendaciones.

Finalmente se muestra las referencias bibliográficas, anexos.

ÍNDICE

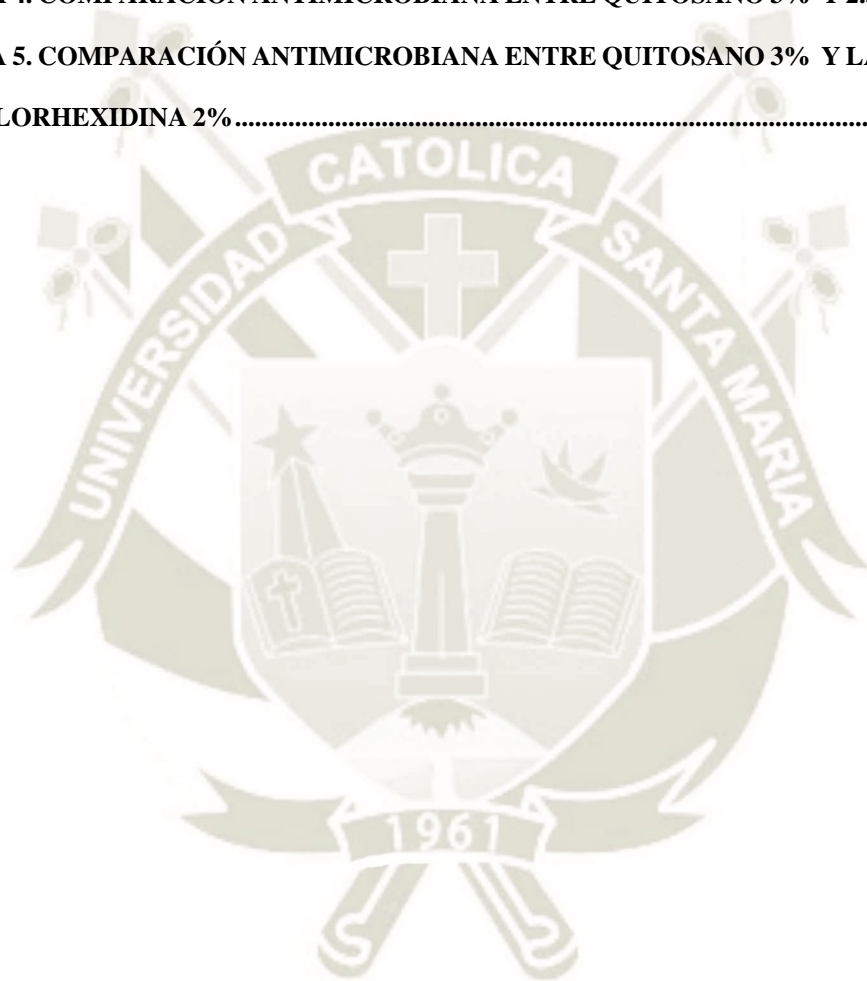
| | |
|---|-------------|
| DEDICATORIA..... | v |
| AGRADECIMIENTO | vi |
| RESUMEN | vii |
| ABSTRACT | viii |
| INTRODUCCIÓN | ix |
| CAPITULO I PLANTEAMIENTO TEÓRICO | 1 |
| 1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN | 2 |
| 1.1 Determinación del problema | 2 |
| 1.2 Enunciado del problema | 2 |
| 1.3 Descripción del Problema | 3 |
| 1.4 Justificación | 4 |
| 2. OBJETIVOS | 6 |
| 3. MARCO TEÓRICO | 7 |
| 3.1 Conceptos Básicos | 7 |
| 3.1.1 Quitosano | 7 |
| 3.1.3 <i>Enterococcus Faecalis</i> | 9 |
| 3.1.4 Pruebas de Sensibilidad | 11 |
| 3.2 Revisión de antecedentes investigativos | 14 |
| 4. HIPÓTESIS | 17 |
| CAPITULO II PLANTEAMIENTO OPERACIONAL | 18 |
| 1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN | 19 |
| 1.1. Técnicas..... | 19 |
| 1.2. Instrumentos | 20 |
| 1.3. Materiales de verificación | 20 |
| 2. CAMPO DE VERIFICACIÓN..... | 26 |
| 2.1. Ámbito..... | 26 |
| 2.2. Ámbito Temporal | 26 |
| 2.3. Unidades de Estudio..... | 27 |
| 3. ESTRATEGIAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS..... | 27 |
| 3.1. Organización..... | 27 |
| 3.2. Recursos. | 28 |
| 4. ESTRATEGIA PARA MANEJAR LOS RESULTADOS..... | 28 |
| 4.1. A nivel de sistematización | 28 |

| | |
|---|-----------|
| CAPITULO III RESULTADOS | 30 |
| PROCESAMIENTO, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS | 31 |
| DISCUSIÓN | 41 |
| CONCLUSIONES..... | 43 |
| RECOMENDACIONES..... | 44 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 45 |
| ANEXOS..... | 47 |



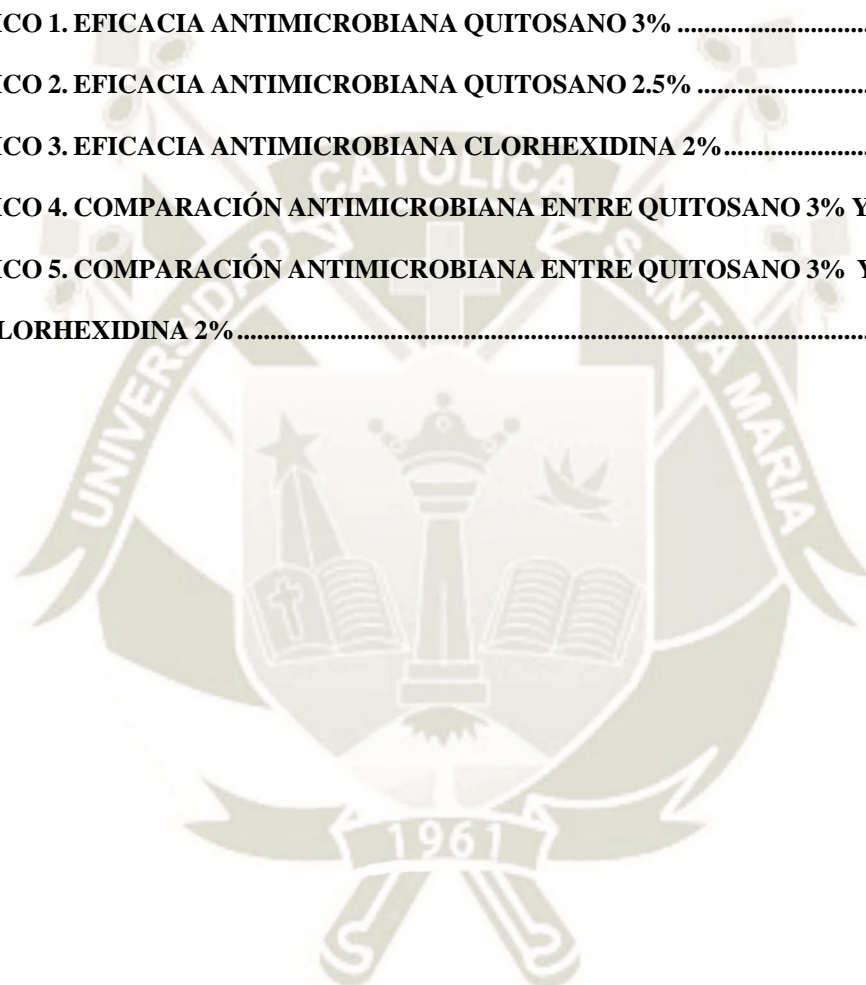
ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| TABLA 1.EFICACIA ANTIMICROBIANA QUITOSANO 3% | 31 |
| TABLA 2. EFICACIA ANTIMICROBIANA QUITOSANO 2.5% | 33 |
| TABLA 3. EFICACIA ANTIMICROBIANA CLORHEXIDINA 2%..... | 35 |
| TABLA 4. COMPARACIÓN ANTIMICROBIANA ENTRE QUITOSANO 3% Y 2.5%..... | 37 |
| TABLA 5. COMPARACIÓN ANTIMICROBIANA ENTRE QUITOSANO 3% Y LA CLORHEXIDINA 2%..... | 39 |



ÍNDICE DE GRÁFICOS

| | |
|---|-----------|
| GRAFICO 1. EFICACIA ANTIMICROBIANA QUITOSANO 3% | 32 |
| GRAFICO 2. EFICACIA ANTIMICROBIANA QUITOSANO 2.5% | 34 |
| GRAFICO 3. EFICACIA ANTIMICROBIANA CLORHEXIDINA 2%..... | 36 |
| GRAFICO 4. COMPARACIÓN ANTIMICROBIANA ENTRE QUITOSANO 3% Y 2.5%..... | 38 |
| GRAFICO 5. COMPARACIÓN ANTIMICROBIANA ENTRE QUITOSANO 3% Y LA CLORHEXIDINA 2%..... | 40 |





CAPITULO I PLANTEAMIENTO TEÓRICO

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 Determinación del problema

En la práctica odontológica actual tenemos varias bacterias difíciles de tratar, entre ellas y de las más comunes el *Enterococcus faecalis*, bacteria anaerobia que puede existir en ambientes con o sin oxígeno y sobrevive en ambientes extremos, se encuentra habitualmente en el intestino.

El *Enterococcus faecalis* también se encuentra en la microbiota de la cavidad oral, sobre todo en conductos radiculares e infecciones del periodonto, dado este problema el odontólogo se ve obligado a usar bactericidas y antibióticos para eliminar la bacteria, sin embargo en estudios anteriores como el de “Encarnación Julián Belmonte” se afirma que el *Enterococcus faecalis* permanece en los conductos tratados, provocando infección y fracaso del tratamiento dental, en el mismo estudio se afirma que el uso de irrigadores antimicrobianos de conductos es eficaz siempre y cuando el odontólogo sepa cuál es más sensible al *Enterococcus faecalis*, así la clorhexidina es uno de los irrigadores más usados.

En la búsqueda de nuevos posibles antimicrobianos para la eliminación del *Enterococcus faecalis* se encontró varios estudios de un biopolímero prometedor que es el Quitosano, también estudios como “Efecto Antimicrobiano del Quitosano” de German Ayala demuestran su gran capacidad antimicrobiana además de bacteriostática y hemostática, pero ¿será realmente eficaz contra esta bacteria?

Existen pocas investigaciones sobre el Quitosano en el uso odontológico siendo este de fácil acceso y económico, por eso fue necesario realizar el presente estudio comparativo para demostrar la eficacia antimicrobiana del Quitosano.

1.2 Enunciado del problema

EFICACIA ANTIMICROBIANA IN VITRO DEL QUITOSANO Y LA CLORHEXIDINA AL 2% EN LA INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO DEL *ENTEROCOCCUS FAECALIS*. AREQUIPA, 2019.

1.3 Descripción del Problema

a) Área de conocimiento

Área general : Ciencias de la salud.

Área específica: Odontología.

Especialidad : Microbiología

Línea o Tópico : Farmacología.

b) Operacionalización de las variables

| Variables | Indicadores | Sub-indicadores |
|---|---|-------------------------------|
| Variable Estimulo 1 Clorhexidina 2% | Gluconato de Clorhexidina (C ₂₂ H ₃₀ Cl ₂ N ₁₀) | -solución -gel |
| Variables Estimulo 2 Quitosano | biopolímero de aminopolisacáridos (D- glucosamina y N-acetil-D- glucosamina) | -Polvo -solución |
| Variable Respuesta Inhibición de Crecimiento del <i>Enterococcus Faecalis</i> | Método Kirby-Bauer (Diámetro del Halo Inhibitorio) Estándar de McFarland (turbidez) | Expresión milimétrica (mm) |

c) Interrogantes básicas.

- ¿Cuál es la eficacia del Quitosano al 2.5% en la inhibición del crecimiento del *Enterococcus faecalis*?
- ¿Cuál es la eficacia del Quitosano al 3% en la inhibición del crecimiento del *Enterococcus faecalis*?
- ¿Cuál es la eficacia de la clorhexidina al 2% en la inhibición del crecimiento de *Enterococcus faecalis*?

- ¿Cuál de los tres agentes tiene mayor eficacia en la inhibición del crecimiento de *Enterococcus faecalis*?

d) Taxonomía de investigación.

| Abordaje | TIPO DE ESTUDIO | | | | | | |
|--------------|----------------------------------|---|---|--|---------------------------------|--------------------|-------------|
| | 1. Por la técnica de recolección | 2. Por el tipo de dato que se planifica recoger | 3. Por el número de mediciones de la variable | 4. Por el número de muestras de la población | 5. Por el ámbito de recolección | Diseño | Nivel |
| Cuantitativo | Observacional | Prospectivo | Longitudinal | Comparativa | De Laboratorio | Cuasi-experimental | Explicativo |

1.4 Justificación

a) Originalidad.

Esta investigación se realiza en base a brindar información laboratorial de actualidad, teniendo en cuenta que en la literatura existen muy pocos estudios de este agente en el ámbito odontológico. Comparando así la eficacia inhibitoria de 2 agentes en diferentes concentraciones la del Quitosano al 2.5% y 3% y la clorhexidina al 2% en el *Enterococcus faecalis*, principal bacteria responsable del fracaso de varios tratamientos dentales, determinaremos que agente posee mejores propiedades antibacterianas mediante el método de Kirby Bauer.

b) Relevancia Social

La importancia de realizar el proyecto surge desde luego del deseo de dar a conocer un producto o principio activo que se encuentra en la localidad de Arequipa en abundancia como es el Quitosano, este se obtiene de los crustáceos, además de económico y que permita una alta eficacia antibacteriana frente al *Enterococcus faecalis*.

Gracias al estudio este tema ayudaría a la práctica profesional, también como una alternativa cómoda para los pacientes debido a su accesibilidad y costos económicos, logrando así una contribución social.

c) Actualidad

Los estudios e investigaciones que se vienen realizando son con la necesidad de dar a conocer datos nuevos y actuales para mejorar la calidad de vida y acercar los nuevos descubrimientos a la sociedad. Esta investigación lograría globalizar los avances científicos, además de la difusión de la riqueza local para la creación de un antimicrobiano eficaz, barato y de conocimiento de todos.

d) Viabilidad.

Las condiciones de estudio son viables ya que existen los medios e instrumentos de estudio que son necesarios para desarrollar la investigación.

e) Interés

En la localidad de Arequipa, contamos con los recursos naturales de las cuales se extrae el Quitosano, que tendría una eficacia antimicrobiana contra microorganismos orales, logrando optimizar los tratamientos y disminuir costos, es por esto que nos vemos obligados a proporcionar y crear nuevas técnicas de tratamientos. En esta investigación se pretende hacer un aporte científico, social e industrial.

f) Motivación Personal.

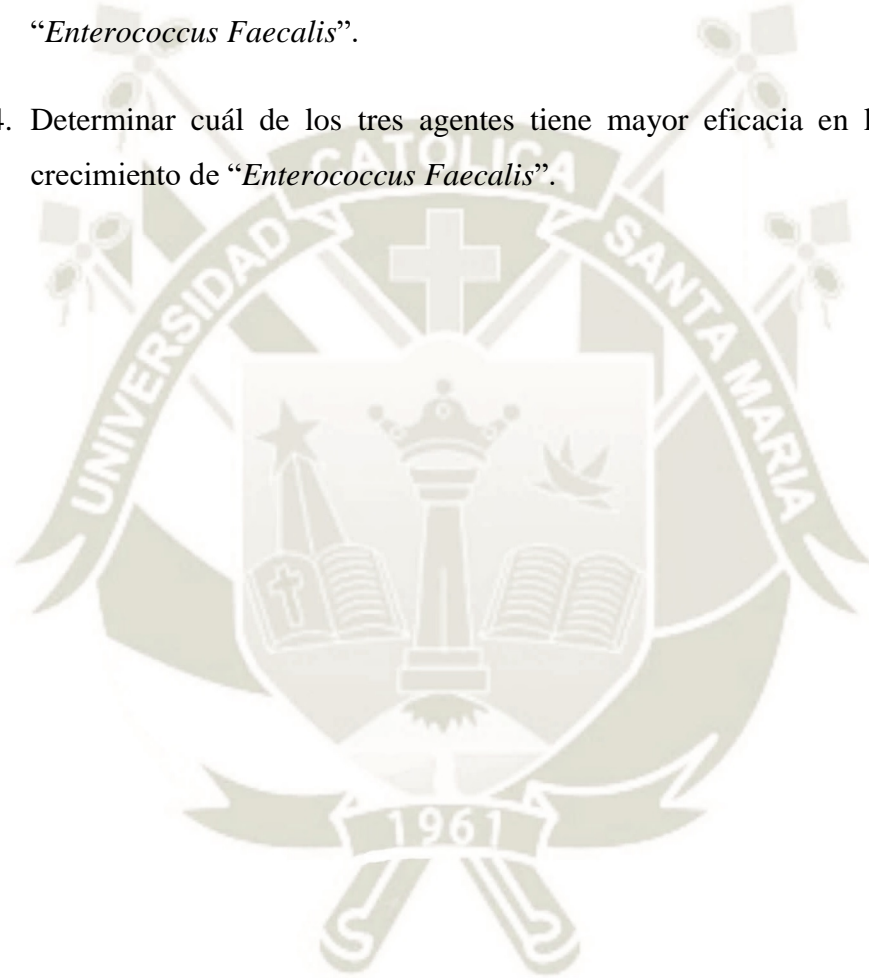
Es la de obtener el título de “Cirujano Dentista” y poder hacer aporte de conocimientos en el campo social, científico, industrial y profesional ya que este trabajo despertó el deseo de investigación y descubrimiento para realizar futuros estudios.

g) Contribución Académica.

Con esta investigación se pretende dar a conocer nuevos aportes de conocimientos sobre las propiedades de los dos fármacos en distintas concentraciones frente a una determinada cepa (*Enterococcus Faecalis*) aportando datos que sirvan para futuros estudios.

2. OBJETIVOS

- 2.1. Determinar la eficacia del Quitosano al 2.5% en la inhibición del crecimiento del “*Enterococcus Faecalis*”.
- 2.2. Determinar la eficacia del Quitosano al 3% en la inhibición del crecimiento del “*Enterococcus Faecalis*”.
- 2.3. Determinar la eficacia de la Clorhexidina al 2% en la inhibición del crecimiento del “*Enterococcus Faecalis*”.
- 2.4. Determinar cuál de los tres agentes tiene mayor eficacia en la inhibición del crecimiento de “*Enterococcus Faecalis*”.



3. MARCO TEÓRICO

3.1 Conceptos Básicos

3.1.1 Quitosano

También conocido como chitosan, es un biopolímero de aminopolisacáridos, ese biopolímero se obtiene a partir de la quitina, es el segundo biopolímero más abundante de la naturaleza mediante, tiene importancia en la industria agrícola, en cosmética y en tratamiento de aguas. Esta sustancia fue descubierta en el año 1859 (2)

El Quitosano se produce mediante la desacetilación parcial de la quitina, que es un elemento estructural en el exoesqueleto de los crustáceos (cangrejos, gambas, langostas, camarón, etc.), así como en insectos. También se encuentra en las paredes celulares de hongos, como los pertenecientes al género Zygomycetes, en algas verdes como *Chlorella* sp, así como en algunas levaduras y protozoos (4).

Composición

Tiene en su composición de unidades distribuidas aleatoriamente de β -(1-4) D-glucosamina (unidades desacetiladas) y N-acetil-D-glucosamina (unidad acetilada) (2).

Funciones

- Como añadido en vendajes para reducir el sangrado (2)
- Biocompatibilidad (no toxicidad) (1).
- En tratamiento de aguas residuales (6)
- Inhibición antimicrobiana (2)

Propiedades

Tiene excelentes propiedades biológicas:

- Biocompatibilidad, biodegradabilidad y no citotoxicidad (7)
- Tiene un pH ácido lo que le confiere su capacidad de quelación (5).

- Tiene propiedades antihemorrágicas y antimicrobianas (5)
- Posee propiedades antitumorales e inmuno-estimulantes y antifúngicas (4)

3.1.2 Clorhexidina

La clorhexidina es una biguanida catiónica, que alcanza su óptima actividad antimicrobiana con valores de pH que van de 5,5 a 7,0. La eficacia de la clorhexidina se debe a su sustantividad, a altas concentraciones del producto, la unión de sus moléculas cargadas positivamente a los grupos fosfato de la pared celular bacteriana, con carga negativa, hace que la clorhexidina penetre en el interior de la bacteria, alterando así el equilibrio osmótico celular, lo cual provoca la precipitación y/o coagulación del citoplasma, resultando en la muerte del microorganismo. A bajas concentraciones produce efecto bacteriostático (8).

Es un agente antimicrobiano de amplio espectro eficaz contra bacterias Gram-negativas y Gram-positivas. Durante muchos años se ha usado en tratamientos preventivos y periodontales como enjuague bucal para prevenir la aparición de placa. Resulta efectiva en infecciones secundarias a procedimientos quirúrgicos orales, y en el mantenimiento de la salud de los tejidos peri-implantarios (9).

La CHX es activa frente a una amplia gama de microorganismos, tales como bacterias Gram-positivas y Gram-negativas incluyendo *Enterococcus faecalis*, levaduras y hongos (10).

Propiedades

Entre sus principales propiedades y para su aplicación se destacan las siguientes:

- 1) Efecto bactericida y bacteriostático (10).
- 2) Actividad antimicrobiana de amplio espectro (11).

3) Sustantividad (capacidad antimicrobiana a largo plazo).

Excelente antibacteriano:

En altas concentraciones tiene efecto bactericida, debido a que penetra dentro de las células microbianas y causa desnaturalización de las proteínas citoplasmáticas con la consecuente muerte celular (9).

En bajas concentraciones el efecto es bacteriostático porque inhibe el crecimiento microbiano.

Si bien esta molécula es de amplio espectro porque actúa sobre una amplia gama de microorganismos, tiene más efectividad sobre microorganismos Gram positivos que para Gram negativos (11).

Irrigación de tratamientos pulpares:

Mediante la inducción, la clorhexidina ha sido reconocida como un efectivo agente antimicrobiano oral utilizado en tratamientos endodónticos, en terapia periodontal, prevención de caries y como agente terapéutico en las infecciones orales en general (12).

Accesible:

Usos y aplicación en costos no es muy alta.

3.1.3 *Enterococcus Faecalis*

Es un coco anaerobio Gram positivo, microaerofílico, considerado un patógeno oportunista que forma biofilm en ambientes hostiles por sí solo, por ende puede contribuir a su papel en la infecciones intrarradiculares persistentes, el *Enterococcus Faecalis* tiene la capacidad de coexistir con otros patógenos (1).

La dificultad para su eliminación se debe a su capacidad de penetración en los túbulos de la dentina (13)

Fisiología

Enterococcus faecalis es una bacteria inmóvil, anaerobia facultativa y fermenta la glucosa sin producir gas. No presenta una reacción con la catalasa en presencia de peróxido de hidrógeno, puede producir una reacción pseudocatalasa si se cultiva en agar sangre, sin embargo ésta es muy débil. *E. faecalis* puede vivir en ambientes extremos que incluyen pH altamente alcalino de 9,6 y elevadas concentraciones de sal (14).

Patogenia

E. faecalis puede causar endocarditis, infecciones de vejiga, próstata, epidídimo; las infecciones de sistema nervioso son menos comunes. *E. faecalis* resiste aminoglicósidos, aztreonam, cefalosporina, clindamicina, las penicilinas semisintéticas (nafcilina, oxacilina, amoxicilina y trimetoprim-sulfametoxazole). La exposición a las cefalosporinas es un riesgo particularmente importante en la colonización e infección con *Enterococos*. Existen una variedad de *Enterococos* que particularmente pueden ser resistente a muchos glicopeptidos como la vancomicina (15)

Clasificación Científica.

- Dominio: Bacteria.
- Filo: Firmicutes.
- Clase: Bacilli.
- Orden: Lactobacillales.
- Familia: *Enterococcaceae*.
- Género: *Enterococcus*.
- Especies: *E. faecalis*.

Mecanismo de acción del *Enterococcus Faecalis*

El *Enterococcus faecalis* causa diversas infecciones, entre ellas endocarditis, infecciones urinarias e intraabdominales, prostatitis, celulitis e infecciones de las heridas, así como bacteriemias concurrentes.

Habitad y transmisión: Habita el tracto gastrointestinal de humanos y otros mamíferos. Como otras Spp. Del género *Enterococcus*, *E. faecalis* puede causar infecciones comprometidas en humanos, especialmente en ambiente de hospital (7).

Tratamiento: Ampicilina con o sin ceftriaxona.

3.1.4 Pruebas de Sensibilidad

Método Kirby-Bauer

El método Kirby-Bauer (método de difusión en agar) es empleado para la determinación de la susceptibilidad de un microorganismo a una droga antimicrobiana (16).

Forma de Aplicación

Se siembra una placa con el microorganismo y se coloca en su superficie discos de papel filtro impregnados con cantidades conocidas de diferentes agentes antimicrobianos.

Cuando el disco se humedece, el antimicrobiano se difunde radicalmente hacia fuera y crea una gradiente de concentración por disco (así el antimicrobiano está en alta concentración cerca del disco y va disminuyendo a medida que se aleja del disco), el diámetro del anillo de inhibición dependerá de la sensibilidad o resistencia del organismos por probar (16).

La elección de los antibióticos depende del germen y del foco de infección. Se incuba la placa durante 18-24 horas a 37 °C (respetar este parámetro, porque temperaturas menores pueden disminuir la velocidad del crecimiento del germen y la difusión del antibiótico, dando halos irregulares difíciles de medir), y luego se miden los halos de inhibición de desarrollo, interpretándose de acuerdo a tablas confeccionadas previamente. Los resultados se expresan como: Sensible (S), Intermedio o Moderadamente sensible (I) y Resistente (R) (16).

Comportamiento de Inhibición

El tamaño del halo de inhibición de desarrollo variará sobre la base de los siguientes parámetros o variables:

- La concentración de la droga o agente.
- Sensibilidad bacteriana.
- Coeficiente de difusión del agente en el agar.
- Tiempo y temperatura de incubación.
- pH y composición del medio. Se usan preparados comerciales que den resultados reproducibles, por ejemplo: agar Müller-Hinton. Son cultivos aceptados por el comité de la OMS para la normalización de las pruebas de susceptibilidad.
- Profundidad del medio en las placas. Esto está estandarizado: se emplean placas de 9 cm de diámetro, y se agrega siempre el mismo volumen de medio de cultivo: 15 ml por placa. De esta manera las placas poseen siempre la misma altura de agar.
- Tamaño del inóculo. Debe estar estandarizado ya que si éste es muy pequeño dará una sensibilidad mayor a la real, y si el inóculo es muy denso pueden aparecer mutantes resistentes.

En los métodos de difusión de mutantes resistentes aparecen como colonias aisladas dentro del halo de inhibición, por lo tanto esto indica que no se puede usar ese antibiótico y se debe informar como resistente. La forma rigurosa de estandarizar un inóculo es normalizando la turbidez por un método fotométrico utilizando una suspensión de sulfato de bario como estándar, según la escala de Mac Farland (17).

Errores al realizar un antibiograma

Dentro de las posibilidades que se cuentan están: densidad del inóculo mal estandarizada, utilización de cultivos no puros, humedad o sequedad excesiva del medio de cultivo que puede conducir a un crecimiento demasiado confluyente o pobre, y deterioro de los discos de aplicación.

Estándar de McFarland

En microbiología, los estándares de turbidez de McFarland se usan como referencia en suspensiones bacteriológicas para saber que el número de bacterias por mililitro, o más bien en UFC según una escala que va de 0.5 a 10. Estos estándares son creados al mezclar soluciones de cloruro de bario al 1% con ácido sulfúrico al 1% en volúmenes específicos, para asegurar la densidad correcta se puede controlar usando espectrofotómetro (17).

Los estándares pueden ser visualmente comparados con suspensiones de bacterias en salina estéril o en caldos. Si la suspensión es demasiado turbia, puede añadirse diluyente, y si no es lo suficiente turbia, se puede agregar más bacterias. La ventaja es que no es necesario incubar ni usar equipo especial para estimar el número de bacterias. La desventaja de este método es que no discrimina a las bacterias vivas de las muertas en la solución, por lo que se puede sobreestimar la población de bacterias.

Casos específicos en los que se usa es en el de antibiogramas o pruebas de sensibilidad, donde es necesario para estandarizar el método y se eviten falsos positivos o negativos.

3.2 Revisión de antecedentes investigativos

a. **Título:** USO DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA Y EL CHITOSÁN EN ENDODONCIA – 2017

Autor: Encarnación Julián Belmonte

Tesis de Grado: Postgrado

Fuente: Biblioteca virtual Universidad de Murcia

Resumen

En este estudio el objetivo principal fue evaluar la eficacia antibacteriana de la terapia fotodinámica y el Quitosano, contra el *E. faecalis* y estudiar el posible efecto potenciador del Quitosano sobre el FS azul de metileno en dientes humanos extraídos experimentalmente infectados, tratados con TFD. Para ello se tomaron 102 dientes unirradiculares humanos, que se dividieron en seis grupos de 17 muestras cada uno. Se les realizó un tratamiento endodóntico, y posteriormente se les inoculó *E. faecalis* en el interior de los conductos radiculares a todos los grupos de estudio y tras 48h de incubación se aplicaron las diferentes terapias (TFD, Quitosano y TFD+Quitosano) a su grupo correspondiente. Mediante este proceso se realizó la cuantificación de UFC/ml. Tras esto fueron deshidratados con etanol a diferentes concentraciones y cortados con un disco metálico de forma longitudinal y fijados para su posterior observación con el microscopio electrónico de barrido (MEB). Los resultados pusieron de manifiesto una gran reducción en los niveles de *E. faecalis* de los conductos radiculares en los cuatro grupos que recibieron el tratamiento antibacteriano, respecto al grupo control, pero sin diferencias significativas entre los grupos de estudio.

Enfoque o conclusiones:

Como conclusión destacar que la mayor eficacia se logró combinando la Terapia Foto Dinámica con Quitosano por lo que el Quitosano puede ser un polisacárido natural con efecto potenciador del fotosensibilizador azul de metileno en el tratamiento endodóntico de TFD contra *E. faecalis*. Además la combinación de TFD + Quitosano produce una mayor reducción sobre la contaminación bacteriana

y el barrillo dentinario en los canales radiculares de dientes humanos previamente infectados con *E. faecalis*, siendo más efectivo que el uso individualizado de TFD o Quitosano

- b. Título:** ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DEL CHITOSAN/PROPÓLEO EN GEL SOBRE EL *ENTEROCOCCUS FAECALIS* 2016.

Autor: GREYTER LUACES ACOSTA

Tesis de Grado: Previo a la obtención de Especialista en endodoncia

Fuente: Repositorio Universidad Cuenca, Ecuador-2017

Resumen:

Esta investigación tuvo como objetivo principal Comparar la eficacia antibacteriana del chitosan/propóleo en gel, con la del hidróxido de calcio (Calcifar-P), la clorhexidina en gel al 2%, el extracto de propóleo al 30% y el gel de chitosan sobre el *Enterococcus faecalis*. Se realizó un estudio comparativo in vitro transversal, utilizando la difusión en agar con el método de Kirby – Bauer. La muestra fue de 14 replicaciones por grupo y se calculó mediante el programa Fistera. Los halos inhibitorios fueron medidos en milímetros después de 24 horas de incubación, a una temperatura de 37°C, los resultados obtenidos se procesaron por medio de las pruebas estadísticas de Shapiro-Wilk, Kruskal-Wallis y Kolmogorov-Smirnov.

Enfoque o conclusiones:

En este estudio se llegó a la conclusión que el chitosan/propóleo en gel tiene mejor eficacia antimicrobiana comparada con el hidróxido de calcio (Calcifar-P), la clorhexidina en gel al 2%, el extracto de propóleo al 30% y el gel de chitosan.

- c. Título:** “PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS DE QUITOSANO DESPOLIMERIZADO Y RETICULADO CON TRIPOLIFOSFATO DE SODIO

Autores: Max Carlos Salazar, Ana Valderrama Negrón

Publicación: Revista Scielo-Peru.

Fuente: Revista de Endodoncia IBECS. Volumen 27. Numero3. Julio-Setiembre 2009.

Resumen

En este trabajo se ha estudiado la preparación y caracterización de películas de quitosano reticuladas con tripolifosfato de sodio (TPP), preparadas por el método de evaporación del solvente. Inicialmente se estudió la despolimerización del quitosano con nitrito de sodio con el fin de obtener diferentes pesos moleculares del polímero utilizado, logrando conseguir así quitosanos de 554,22kDa y 133,37kDa de masa molar. Posteriormente se preparó y caracterizó películas de quitosano reticuladas con TPP, evidenciando la interacción puente hidrógeno con el polianión mediante técnicas FTIR, SEM, TG. También se realizó estudios de hinchamiento, con el objetivo de identificar el tipo del modelo cinético que permite explicar dicho fenómeno en estas películas.

En conclusiones, Se logró caracterizar y despolimerizar quitosano, bajando el peso molecular de 554,22kDa a 133,37kDa; adicionalmente, se construyó la curva de despolimerización del quitosano inicial, con la finalidad de controlar el peso molecular deseado en la despolimerización. Se obtuvo películas de quitosano de bajo y alto peso molecular, reticulado con tripolifosfato y cargado con antocianinas por el método de evaporación de solvente. Los estudios de espectroscopía de infrarrojo y microscopía electrónica de barrido, termogravimetría e hinchamiento, mostraron que el tripolifosfato reacciona electrostáticamente con el quitosano, manteniendo las antocianinas dentro de la matriz polimérica.

4. HIPÓTESIS

Dado que el Quitosano tiene propiedades antimicrobianas por su capacidad quelante, es probable que este agente sea más eficaz que la clorhexidina en el *Enterococcus faecalis*.





CAPITULO II

PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN

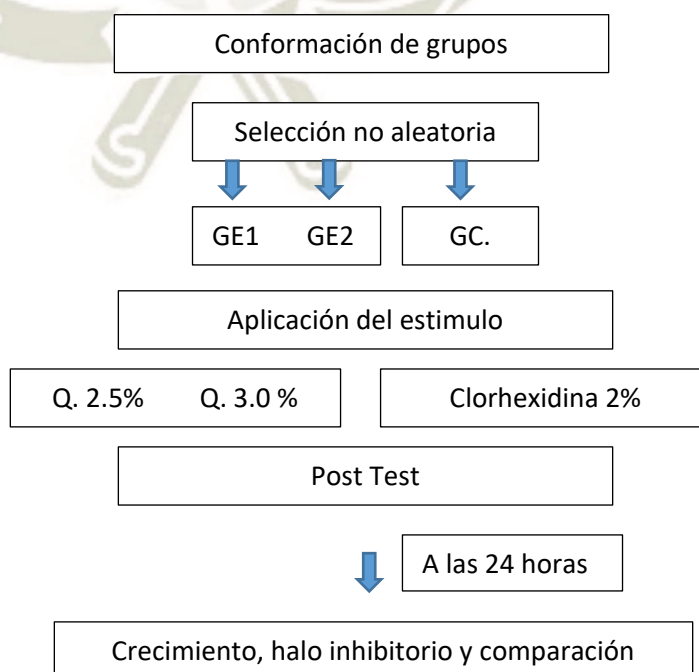
1.1. Técnicas

La técnica que se desarrolló en el presente estudio fue mediante la Observación y medición microbiológica laboratorial.

1.1.1. Esquematzación

| Variable | Indicadores | Sub-Indicadores | Técnica | Instrumento |
|--|--|-----------------|---------------------------------------|--------------------------------|
| Variable Estimulo 1 Clorhexidina al 2% | Halo inhibitorio | mm | Observación y Medición Microbiológica | Ficha Observación Laboratorial |
| Variable Estimulo 2 Quitosano al 2.5% y 3% | Halo inhibitorio | mm | Observación y Medición Microbiológica | Ficha Observación Laboratorial |
| Variable Respuesta Inhibición del Crecimiento del <i>Enterococcus Faecalis</i> | - Crecimiento bacteriano - Halo inhibitorio | mm | Observación y Medición Microbiológica | Ficha Observación Laboratorial |

1.1.2 Diagrama Operativo



1.2. Instrumentos

1.2.1. Instrumento Documental

Se utilizó un solo instrumento de tipo elaborado denominado ficha de observación laboratorial en la que se registran los efectos tanto del Quitosano al 2.5% y 3%, como de la clorhexidinda al 2%.

| CEPA | CONCEN- TRACION | Quitosano | | Clorhexidina | |
|-------------|--------------------|--------------------------------------|--|--------------------------------------|--|
| | | Kirby Bauer (Halo inhibitorio en mm) | | Kirby Bauer (Halo inhibitorio en mm) | |
| E. Faecalis | 2.5% | | | | |
| | 3% | | | | |
| | 2% | | | | |
| | | | | | |

1.3. Materiales de verificación

1.3.1. Material

- Quitosano
- Clorhexidina 2%
- *Enterococcus Faecalis*.

1.3.2. Equipos de Laboratorio

- Campana extractora de gases
- Autoclave
- Balanza eléctrica
- Cámara de anaerobiosis
- Cámara de bioseguridad
- Cocina eléctrica
- Estufa
- Incubadora
- Refrigeradora
- Micropipetas
- Gradillas
- Mecheros
- Espectometro
- Tubos de ensayo
- Placa Petri
- Varilla de vidrio
- Mechero de bunsen
- Propipetas
- Pipetas
- Micropipetas
- Gradillas para tubo de ensayo
- Probeta

1.3.3. Medios de Cultivo

- Agar KF
- Agar mueller hington

1.3.4. Materiales de Vidrio y Recolección

- Probeta Graduada
- Placas Petri
- Matraces
- Frascos de Vidrio

- Tubos de ensayo
- Tubos Ependor
- Soporte Ependor
- Puntas blancas, amarillas y azules

1.3.5. Materiales de Escritorio

- Cámara fotográfica digital
- Utilería en general
- Marcadores indelebles
- Regla
- Lupa
- Cinta masking
- Etiquetas

1.3.6. Instrumentos documentales

Ficha de acumulación de datos

1.3.7. Otros

- Algodón
- Alcohol
- Gasa
- Guantes
- Barbijos
- Hisopos estériles
- Lejía trípode
- Pinzas metálicas
- Campo de trabajo
- Discos de papel
- Papel platino
- Papel krap
- Papel toalla

1.4. Metodología.

Clasificación de los Grupos de Estudio

Los grupos de estudio que componen el presente proyecto de investigación son los siguientes: Solución de Quitosano al 2.5% y al 3%, Clorhexidina al 2%.

Esterilización

Se esterilizó todo material de laboratorio (probetas, matraces, mecheros, espátulas, tubos de ensayo, gradillas, placas Petri, etc.).

Preparación del Quitosano

El Quitosano se obtuvo a través de un distribuidor de productos bioquímicos, para luego ser procesado en los laboratorios de investigación de la Universidad Católica de Santa María. El ácido acético al 2% requerido para la elaboración de estas soluciones se obtuvo por compra directa de los laboratorios Genlab.

El Quitosano químicamente puro fue pesado en una balanza de presión de laboratorio en concentraciones de 2.5, y 3 gramos y preparados con 100 ml de agua destilada y ácido acético al 2% en un matraz usando una espátula estéril.

Preparación de medios

Preparación de Agar KF.

Se pesó 7.6 gramos del medio en 100 ml de agua destilada. Se mezcló bien y disolvió por calentamiento en la estufa agitando con frecuencia dejando hervir durante un minuto hasta su completa disolución. Fue sellado y llevado a la autoclave a 121 ° C por un tiempo de 15 minutos, después la preparación se dejó enfriar para luego ser dispensada en la caja Petri.

Obtención de la cepa

La cepa de *Enterococcus faecalis* fue adquirida de los laboratorios Gentlab Perú.

Activación de la cepa

La cepa se presentó en un tubo liofilizado, por lo cual se la mantuvo a temperatura ambiente el día anterior y fue liberada en una zona de trabajo estéril, se dejó salir el líquido hidratante que contiene la ampolla y acto seguido se mezcló con el microorganismo que estaba en la parte inferior de la ampolla durante 30 minutos.

Siembra de la cepa *Enterococcus faecalis*

Se realizó la siembra de la cepa en agar KF dispuesto en la caja Petri, para esto se usó un asa de inoculación estéril. La siembra se hizo en forma simple por estrías, desde el extremo superior hasta el inferior. La caja Petri se rotulo para ser incubada a 37°C por 24 horas, para obtener las colonias de bacterias.

Preparación del inculo

Pasadas las 24 horas de incubación se comprobó el crecimiento de las bacterias de la cepa para así obtener el inculo, esto se realizó depositando las colonias bacterianas en un tubo de ensayo estéril con agua destilada y agitándolo.

Estándar de turbidez Mc Farland

Del tubo estéril con agua destilada que contenían la cepa (*E. Faecalis*), se extrajo una pequeña cantidad con una micropipeta de la parte media del contenido del tubo para ser depositados a una celda de vidrio y medidos en el espectrofotómetro que fueron comparados en la escala de Mc Farland de 0.5.

Preparación Agar Muller Hington

Se disolvió 0.9 gramos de polvo en 100ml de agua destilada en un matraz con la ayuda de una estufa se calentó hasta obtener una mezcla homogénea, posteriormente fue sellado y llevado al autoclave a 121°C por un tiempo de 15 minutos, después la preparación fue depositada en placas Petri esterilizadas y después se dejó reposar su contenido por unos minutos para luego ser envueltas en papel Craft y guardarlas en el refrigerador.

Inoculación de las Placas

Después de haber preparado el inóculo se introdujo la micropipeta calibrada cerca del mechero, se procedió a tomar una punta de micropipeta para luego extraer 0.1 ml (100µL) de la muestra ya diluida, posteriormente fue llevada al agar Mueller Hinton, seguidamente se extendió la muestra por toda la superficie y periferia del agar por agotamiento para conseguir una siembra uniforme.

Colocación de los reactivos

Después del secado del agar, se colocaron en el agar los discos filtro previamente embebido en 10µL con la Clorhexidina al 2% y las soluciones del Quitosano al 2.5% y 3%. Al colocar los discos filtro en el agar se realizó una ligera presión para asegurarse un contacto adecuado del disco con el agar, estos se situaron a 15mm o más del borde de la caja Petri, colocando solo 4 discos por placa.

Incubación

Finalmente se trasladaron las cajas Petri con los discos de los grupos de estudio a la estufa para ser incubados a 37°C por 24 horas. La incubación se realizó de forma invertida para mantener los niveles de humedad y no afectar

el crecimiento bacteriano, las cajas Petri en grupos de 5 fueron colocadas en la estufa por razones de uniformidad en la distribución de calor durante el proceso.

Medición de halo inhibitorio

Al cabo de 24 horas se hizo la medición del halo donde se determinó sensibilidad In-vitro en placa y se recolectaron los valores para su análisis estadístico e interpretación.

Plan de Análisis

Para analizar la información se creó una base de datos en el programa Excel con los valores recogidos de los halos inhibitorios correspondiente a los grupos de estudio, en sus quince replicaciones.

Posteriormente se realizó la comparación de medias con la prueba de Krustal Wallis, por ser muestras independientes y se consideran resultados significativos niveles iguales o menores al 5% ($p \leq 0.05$)

2. CAMPO DE VERIFICACIÓN

2.1. Ámbito

Ámbito General: Arequipa

Ámbito Específico: Laboratorios de Microbiología de la Universidad Católica Santa María.

2.2. Ámbito Temporal

La investigación corresponde al año 2019, tiene una visión temporal prospectiva, explicable porque recogerá información a medida que van ocurriendo los hechos, también es de corte longitudinal por las varias etapas de observación y control que tiene.

2.3. Unidades de Estudio

En el presente trabajo de investigación se tomaron dos agentes y una cepa los mismos que serán usados en grupos por que corresponde a una investigación experimental.

2.3.1. Identificación de los Grupos

En los dos grupos se procedió a una minuciosa replicación de la Cepa de *Enterococcus faecalis*. Se precisó por lo tanto de dos grupos experimentales: el primero fue sometido el cultivo de la Cepa *Enterococcus faecalis* frente al Qitosano y el segundo grupo fue sometido el cultivo de la Cepa *Enterococcus faecalis* frente a la Clorhexidina.

2.3.2. Diagramación Operativa

Descripción de la técnica

Se va a conformar aleatoriamente

Discos de Difusión:

Tres grupos de cinco placas Petri de cada uno del que se obtendrán 15 valores en cada grupo

En la aplicación del estímulo se va a colocar Qitosano al 2.5% y al 3% luego se hará una observación post estímulo para evaluar la respuesta a las 24 horas en el 2.5, y 3% de concentración. De igual forma se procederá con la Clorhexidina al 2%.

3. ESTRATEGIAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.1. Organización

Antes de la realizar el estudio necesitamos lo siguiente:

- Presentación de la solicitud de autorización para el uso de los laboratorios en la Universidad Católica Santa María.
- Compra de la cepa del microorganismo en estudio.
- Preparación de las unidades de estudio.
- Prueba Piloto.

3.2. Recursos.

3.2.1. Recursos Humanos.

Investigador: Juan Vladimir Quispe Luque

Asesor: Dr. Alberto Figueroa Banda

3.2.2. Recursos Físicos.

- Laboratorios de la Universidad Católica Santa María.
- Biblioteca de la Universidad Católica Santa María.

3.2.3. Recursos Económicos.

Financiado por el Investigador.

3.2.4. Recursos Institucionales.

Universidad Católica Santa María.

4. ESTRATEGIA PARA MANEJAR LOS RESULTADOS

4.1. A nivel de sistematización

a. Tipo de procedimiento

El procedimiento fue de tipo manual y computarizado a través de tablas estadísticas.

b. Plan de operaciones

Clasificación de Datos: Toda la información obtenida se ordenó en una matriz de sistematización.

Recuentos: Se hará en forma manual considerando el número de unidades de estudio.

Tabulación: Los datos numéricos están presentados en los cuadros numéricos.

Graficación: Se emplearon gráficos de columnas y barras.

c. Tratamiento Estadístico.

| VARIABLE INVESTIGATIVA | CARÁCTER ESTADÍSTICO | ESCALA DE MEDICIÓN | ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS | PRUEBA ESTADÍSTICA |
|-----------------------------------|----------------------|--------------------|---------------------------|--------------------|
| Crecimiento de <i>E. Faecalis</i> | Cuantitativo | Proporcional | Media | T de student |



CAPITULO III RESULTADOS

PROCESAMIENTO, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS**TABLA N° 1****EFFECTO ANTIMICROBIANO DEL QUITOSANO AL 3% EN LA INHIBICION
DEL ENTEROCOCCUS FAECALIS***Tabla 1. eficacia antimicrobiana Quitosano 3%*

| QUITOSANO 3% | Valores |
|---------------------------|----------------|
| Media Aritmética | 14.33 |
| Mediana | 15.00 |
| Desviación Estándar | 1.91 |
| Halo de Inhibición Mínimo | 11 |
| Halo de Inhibición Máximo | 18 |
| Total | 15 |

Fuente: Matriz de datos

La Tabla N° 1, Se observa que los resultados medidos dieron una media de 14.33mm y una mediana de 15mm el cual es un valor que está muy cercano a la media por lo cual podemos indicar que no hay valores extremos, así mismo de las 15 muestras el halo más pequeño que se encontró fue de 11mm y el halo máximo de 18mm.

GRÁFICO N° 1

EFICACIA ANTIMICROBIANO DEL QUITOSANO AL 3% EN LA INHIBICION DEL ENTEROCOCCUS FAECALIS

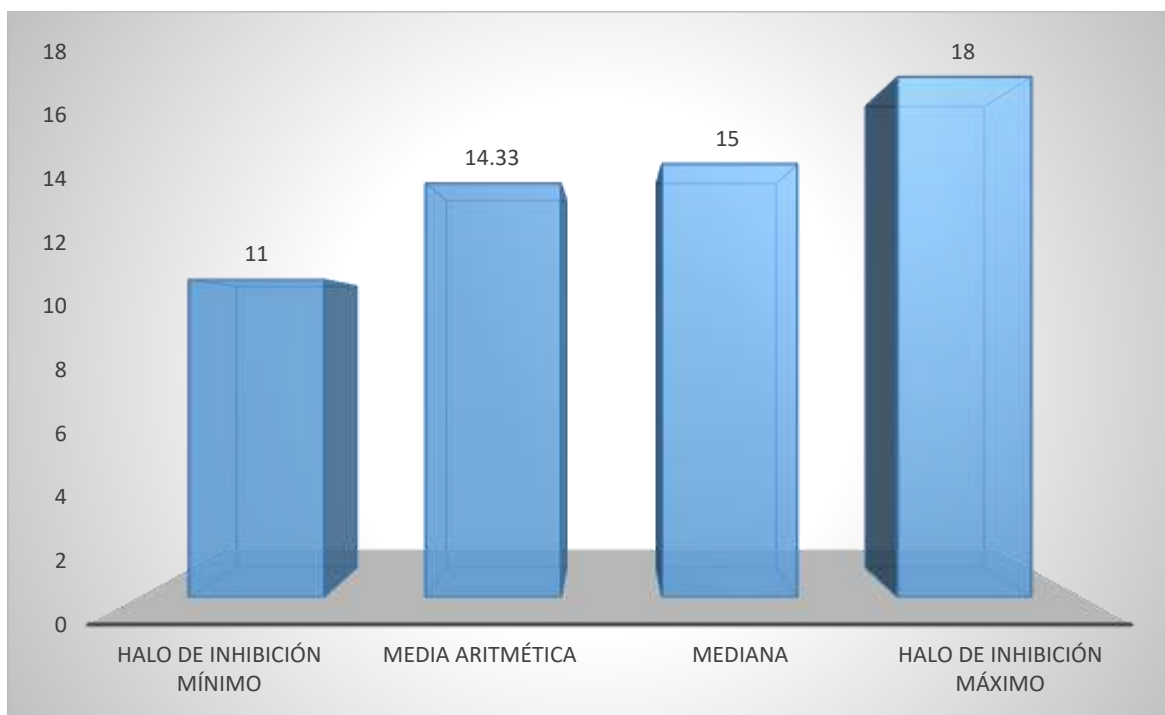


Grafico 1. Eficacia antimicrobiana Quitosano 3%

TABLA N° 2

EFICACIA ANTIMICROBIANA DEL QUITOSANO AL 2.5% EN LA
INHIBICION DEL *ENTEROCOCCUS FAECALIS*

Tabla 2. Eficacia antimicrobiana Quitosano 2.5%

| QUITOSANO 2.5% | Valores |
|---------------------------|---------|
| Media Aritmética | 12.87 |
| Mediana | 13.00 |
| Desviación Estándar | 2.03 |
| Halo de Inhibición Mínimo | 10 |
| Halo de Inhibición Máximo | 16 |
| Total | 15 |

Fuente: Matriz de datos

La Tabla N° 2, Se observa que los resultados del halo dieron una media de 12.87mm y una mediana de 13mm el cual es un valor que está muy cercano a la media por lo cual podemos indicar que no hay valores extremos, así mismo de las 15 muestras el halo más pequeño que se encontró fue de 10mm y el halo máximo de 16mm

GRÁFICO N° 2

EFICACIA ANTIMICROBIANA DEL QUITOSANO AL 2.5% EN LA INHIBICIÓN DEL *ENTEROCOCCUS FAECALIS*

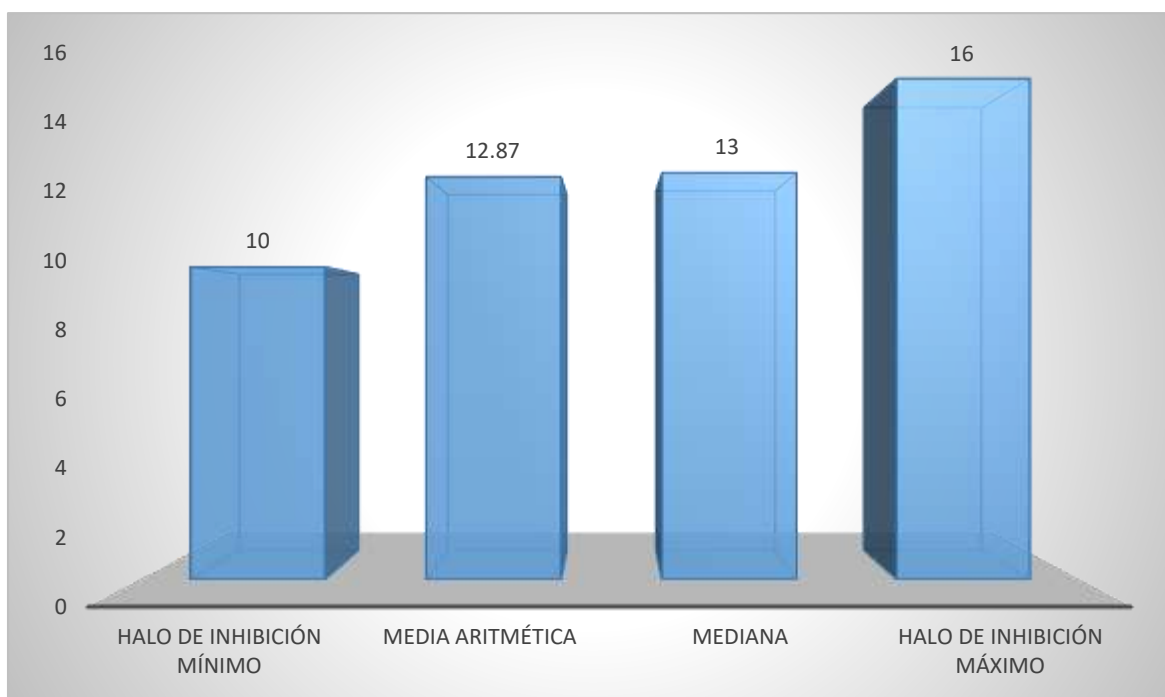


Grafico 2. Eficacia antimicrobiana Quitosano 2.5%

Fuente: Matriz de Registro y Control (Elaboración personal)

TABLA N° 3

**EFICACIA ANTIMICROBIANA DE LA CLORHEXIDINA AL 2% EN LA
INHIBICION DEL *ENTEROCOCCUS FAECALIS***

Tabla 3. Eficacia antimicrobiana Clorhexidina 2%

| CLORHEXIDINA 2% | Valores |
|---------------------------|---------|
| Media Aritmética | 16.53 |
| Mediana | 16.00 |
| Desviación Estándar | 1.72 |
| Halo de Inhibición Mínimo | 14 |
| Halo de Inhibición Máximo | 20 |
| Total | 15 |

Fuente: Matriz de datos

La Tabla N°3, Según los resultados de los halos de inhibición, se observa que los resultados dieron una media de 16.53mm y una mediana de 16mm el cual es un valor que está muy cercano a la media por lo cual podemos demostrar que no hay valores extremos, así mismo de las 15 muestras el halo más pequeño que se encontró fue de 14mm y el halo máximo de 20mm

GRÁFICO N° 3

EFICACIA ANTIMICROBIANO DE LA CLORHEXIDINA AL 2% EN LA INHIBICION DEL *ENTEROCOCCUS FAECALIS*

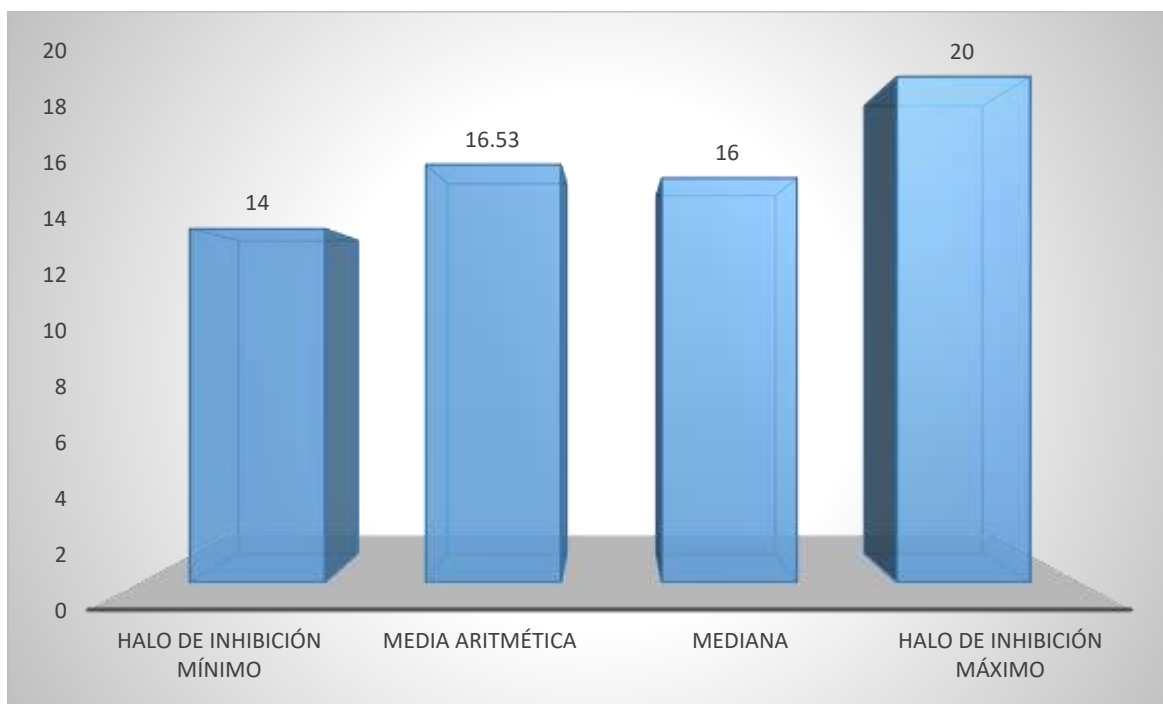


Grafico 3. Eficacia antimicrobiana Clorhexidina 2%

Fuente: Matriz de Registro y Control (Elaboración personal)

TABLA N° 4

**COMPARACIÓN DE LA EFICACIA ANTIMICROBIANA ENTRE EL
QUITOSANO AL 3% Y EL QUITOSANO AL 2.5% EN LA INHIBICIÓN DEL
*ENTEROCOCCUS FAECALIS***

Tabla 4. Comparación antimicrobiana entre Quitosano 3% y 2.5%

| Halo de Inhibición | Grupo de Estudio | |
|---------------------------|---------------------------|----------------|
| | Quitosano 3% | Quitosano 2.5% |
| Media Aritmética | 14.33 | 12.87 |
| Desviación Estándar | 1.91 | 2.03 |
| Halo de Inhibición Mínimo | 11 | 10 |
| Halo de Inhibición Máximo | 18 | 16 |
| Total | 15 | 15 |
| Fuente: Matriz de datos | P = 0.047 (P < 0.05) S.S. | |

La Tabla N°4, El Quitosano al 3% formo frente al *Enterococcus faecalis* un halo de inhibición media de 14.33 mm oscilando entre 11mm y 18mm mientras que el Quitosano al 2.5% formo un halo medio de 12.87mm que oscilo entre 10mm y 16 mm. Presento diferencias estadísticas significativas (P<0.05), dado que los valores de P fueron (0.047); por ende podemos afirmar que el efecto del Quitosano al 3% es mejor.

GRÁFICO N° 4

COMPARACIÓN DE LA EFICACIA ANTIMICROBIANA ENTRE EL QUITOSANO AL 3% Y EL QUITOSANO AL 2.5% EN LA INHIBICION DEL *ENTEROCOCCUS FAECALIS*

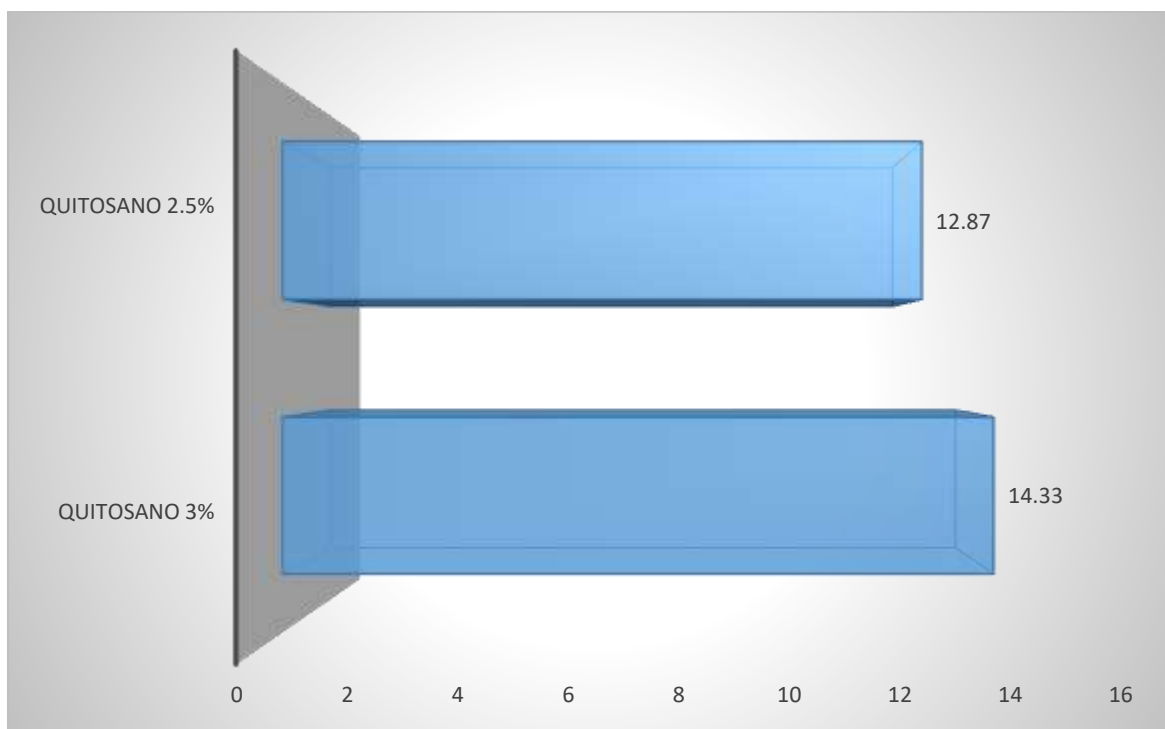


Grafico 4. Comparación antimicrobiana entre Quitosano 3% y 2.5%

Fuente: Matriz de Registro y Control (Elaboración personal)

TABLA N° 5

**COMPARACIÓN DE LA EFICACIA ANTIMICROBIANA ENTRE EL
QUITOSANO AL 3% Y LA CLORHEXIDINA AL 2% EN LA INHIBICION DEL
*ENTEROCOCCUS FAECALIS***

Tabla 5. Comparación antimicrobiana entre Quitosano 3% y Clorhexidina 2%

| Halo de Inhibición | Grupo de Estudio | |
|---------------------------|---------------------------|-----------------|
| | Quitosano 3% | Clorhexidina 2% |
| Media Aritmética | 14.33 | 16.53 |
| Desviación Estándar | 1.91 | 1.72 |
| Halo de Inhibición Mínimo | 11 | 14 |
| Halo de Inhibición Máximo | 18 | 20 |
| Total | 15 | 15 |
| Fuente: Matriz de datos | P = 0.003 (P < 0.05) S.S. | |

La Tabla N°5, El Quitosano al 3% formo frente al *Enterococcus faecalis* un halo de inhibición media de 14.33 mm oscilando entre 11mm y 18mm mientras que la Clorhexidina al 2% formo un halo medio de 16.53mm que oscilo entre 14mm y 20 mm. Según las pruebas estadísticas Presento diferencias significativas (P<0.05), dado que los valores de P fueron (0.003); por ende podemos afirmar que el efecto del Quitosano al 3% inferior al de la clorhexidina al 2%.

GRÁFICO N° 5

**COMPARACIÓN DE LA EFICACIA ANTIMICROBIANA ENTRE EL
QUITOSANO AL 3% Y LA CLORHEXIDINA AL 2% EN LA INHIBICIÓN DEL
ENTEROCOCCUS FAECALIS.**

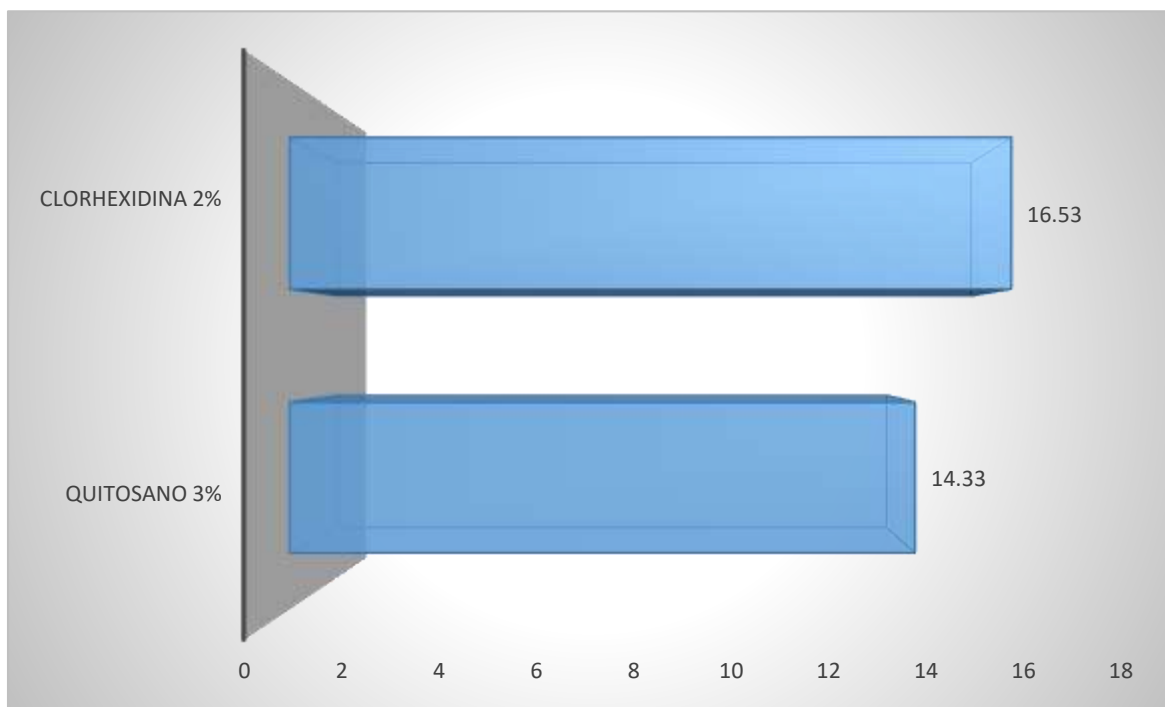


Grafico 5. Comparación antimicrobiana entre Quitosano 3% y Clorhexidina 2%

Fuente: Matriz de Registro y Control (Elaboración personal)

DISCUSIÓN

El presente trabajo es un estudio que tuvo como objetivo comparar la eficacia antimicrobiana in vitro del Quitosano con la Clorhexidina al 2% contra la cepa de *Enterococcus faecalis*.

Se analizaron los resultados y se comparó con otros estudios similares como el estudio realizado por Gomes en el 2007 donde se comparó la actividad antimicrobiana del gluconato de clorhexidina en gel al 2% contra algunos patógenos comunes en las endodoncias entre ellos en *E. faecalis*, uso el método de difusión en agar y la prueba de contacto directo en el agar, obteniendo como resultados halos de inhibición de la clorhexidina en gel al 2% con un valor máximo de 21.6 mm, el cual coincide con los resultados de esta investigación (20mm).

Estos resultados se obtuvieron de la medición de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano en el agar Mueller Hinton, que fue inoculado con el *Enterococcus faecalis* luego de 24 hora de incubación.

Por otro lado los resultados obtenidos en esta investigación también fueron similares a los obtenidos por Gretter Luaces en el 2017 donde la media del halo inhibitorio de la clorhexidina al 2% fue superior a la del Quitosano sobre el *Enterococcus faecalis*, usando el método de difusión en agar.

Resultados semejantes al presente estudio fueron reportados por el Dr. Alvares y colaboradores en el año 2016, donde se usó el método kirby Bauer, en sus resultados obtuvieron valores por debajo de 10mm en el caso del Quitosano al 1%. Lo cual se justifica por la menor concentración del mismo.

Finalmente, con esta investigación se puede confirmar la eficacia antimicrobiana del Quitosano frente al *Enterococcus Faecalis* siendo más eficaz en este caso el Quitosano al 3% siendo los resultados estadísticamente significativos. Por otro lado cabe mencionar que la Clorhexidina al 2% obtuvo la mayor eficacia frente al Quitosano 3% siendo también los resultados estadísticos significativos, con lo cual se puede afirmar que la clorhexidina es mejor antimicrobiano en la inhibición del *E. faecalis*.

Sin embargo, en otros estudios se muestran resultados contradictorios en cuanto a la eficacia antimicrobiana del Quitosano sobre el *Enterococcus faecalis*. Ese es el caso del estudio de Alexander Perez y colaboradores, donde se obtuvieron resultados en el cual el Quitosano en diferentes concentraciones no mostro eficacia antimicrobiana contra el *E. faecalis*. La

diferencia entre los resultados se debe sin embargo probablemente a la metodología empleada, como mayor periodo de incubación, medios de cultivo diferentes y la procedencia del Quitosano.

Cabe dar mención que no existe hasta la fecha en la literatura estudios con la metodología empleada en este trabajo, más que el de Gretter Luaces y colaboradores en 2017 (14). Estudio en el que se basó esta investigación.



CONCLUSIONES

Luego de haberse desarrollado el trabajo de investigación y obtener los resultados se concluye:

- Que el Quitosano al 2.5% tuvo la menor media de halo inhibitorio con 12.87 mm y por tanto la menor eficacia contra el *Enterococcus faecalis*.
- Que el Quitosano al 3% con una media de halo inhibitorio de 14.33 mm demostró ser más eficaz contra el *Enterococcus faecalis*.
- Que la Clorhexidina al 2% mostro tener mayor eficacia antimicrobiana in vitro sobre el *E. faecalis* con una media de halo inhibitorio de 16.53 mm.
- Según la media del halo inhibitorio de los tres agentes se concluye que la Clorhexidina al 2% obtuvo la media de halo inhibitoria más alta, demostrando ser la más eficaz contra el *Enterococcus faecalis*

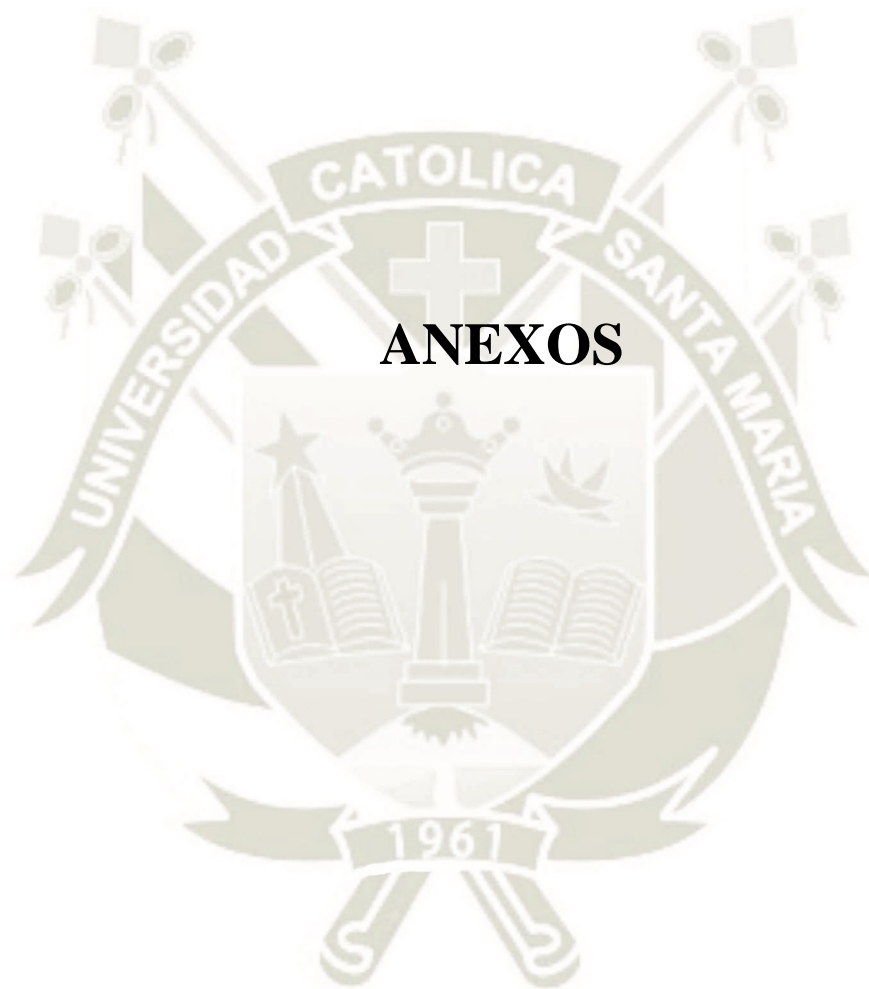
RECOMENDACIONES

- Realizar más investigaciones o estudios comparativos de mayor tamaño que permitan ratificar los resultados obtenidos en esta investigación.
- Permitir el reconocimiento y usos de ambos agentes como antimicrobianos en el tratamiento del *E. faecalis*.
- Realizar comparación de diferentes concentraciones del Quitosano para descartar la de mayor eficacia antimicrobiana.
- Podríamos mejorar los efectos del Quitosano si lo aplicamos en sinergia con otra sustancia que demuestre poder antimicrobiano.
- Usar para futuros estudios antimicrobianos del Quitosano, quitina extraída del exoesqueleto de crustáceos.
- Investigar la capacidad antimicrobiana del Quitosano proveniente de la quitina extraída del exoesqueleto de insectos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. David Conde ELSJAMMHRJTMSG. Características clínicas diferenciales entre las bacteriemias por *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*. 2010 julio.
2. Rodríguez Pedroso RARgBMBNBb. Propiedades químico-estructurales y actividad biológica de la quitosana en microorganismos fitopatógenos. Chapingo. 2009 diciembre.
3. Juan Espinosa Cuello MdJ. Eficacia en el tratamiento de las Quemaduras de segundo grado superficial utilizando Apositos de Quitosano. HPIA. 2013 abril.
4. Avala JM. Aplicación de Quitosano como biocoagulante en aguas residuales contaminadas con hidrocarburos. universidad técnica de manabí. 2017.
5. Mileydi de la C. Torres Lopez MDAAAm. La clorhexidina, bases estructurales y aplicaciones en; la estomatología. gaceta médica espirituana. 2016.
6. francisco BP. Soluciones para Irrigación en endodoncia: hipoclorito de sodio y gluconato de clorhexidina. Revista científica Odontológica. 2007 abril; 3(1).
7. Juan Jose Maya SJrRPSLMV. Papel de la Clorhexidina en la prevención de las infecciones asociadas a la atención en salud. revista de la asociación colombiana de infectología. 2015.
8. Ulrich Schlagenhaut MR. La clorhexidina en odontología aspectos generales. publicación internacional de odontología. ;(issn 0214-0985).
9. Calderon CV XFCB. Estudio comparativo in vitro de la capacidad antibacteriana de la clorhexidina, hidróxido de calcio y yoduro de potasio yodado contra *fusobacterium nucleatum*. revista odonto mex. 2007.
10. Rodríguez Varo LPSJCSC. Acción antimicrobiana in vitro de distintas medicaciones sobre *Enterococcus faecalis* y *Actinomyces israeli*. Asociación española de endodoncia. 2014.
11. José Pablo Meneses Guzmán ELA. Microfiltración Bacteriana del *Enterococcus faecalis* a través de los Materiales de Restauración Temporal en Endodoncia. Departamento de ciencias Restaurativas, facultad de odontología, Universidad de Costa Rica. 2015.
12. Laura Viviana Herrera Sandoval MHPOORMLFNFJRPJAVHBJASS. Actividad Antimicrobiana in vitro de un Propoleo de Santander sobre *Enterococcus faecalis*. Revista Usta Salud, Colombia. 2012.

13. Mounton C RJ. Bacteriología Bucodental Masson España; 1995.
14. Levinson W JE. Microbiología e Inmunología Medica: El manual Moderno; 1992.
15. Maye Bernal R. MG. El antibiograma de discos. Normalizacion de la Tecnica de Kirby Bauer. Biomedica. 1994; 4(3 y 4).
16. E. RC. Bacteriología general - Principios y Practicas de Laboratorio. 13th ed. Mexico: El Manual Moderno; 1989.
17. Scribd. [Online]. Available from: <https://es.scribd.com/document/267683291/Medio-de-Cultivo-BHI>.
18. [Online]. Available from: https://es.wikipedia.org/wiki/Est%C3%A1ndar_de_McFarland.
19. German AV. Efecto Antimicrobiano del Quitosano: Una revision de la Literatura. Scientia Agroalimentaria. 2015; 2(32-38).
20. Belmonte EJ. Uso de la Terapia Fotodinamica y el Chitosan en Endodoncia murcia: Universidad de Murcia; 2017.
21. Acosta GL. Actividad Antimicrobiana in vitro del Chitosan/Propoleo en gel sobre el Enterococcus faecalis Cuenca: Universidad de Cuenca; 2017.



ANEXO N° 1

MODELO DE FICHA LABORATORIAL

Ficha de observación microbiológica

| Efecto de agentes ante la presencia del <i>Enterococcus faecalis</i> | | | | |
|--|-------------------------|--------------------------------------|-----------------|--------------------|
| Muestra | Interpretación S/M/R | Halos de inhibición (diámetro en mm) | | |
| | | Quitosano 2.5% | Quitosano 3% | Clorhexidina 2% |
| 1 | | | | |
| 2 | | | | |
| 3 | | | | |
| 4 | | | | |
| 5 | | | | |
| 6 | | | | |
| 7 | | | | |
| 8 | | | | |
| 9 | | | | |
| 10 | | | | |
| 11 | | | | |
| 12 | | | | |
| 13 | | | | |
| 14 | | | | |
| 15 | | | | |
| | | | | |

Susceptible: mayor 11mm

Medio: entre 7 y 10 mm

Resistente: hasta 6mm

ANEXO ° 2

MATRIZ DE DATOS

| Efecto de agentes ante la presencia del <i>Enterococcus faecalis</i> | | | |
|--|--|--------------------------|--------------|
| tiempo | | 24 Horas | |
| Muestra | | Halos de inhibición (mm) | |
| | | Quitosano | Clorhexidina |
| 1 | | 9 | 7 |
| 2 | | 9 | 8 |
| 3 | | 10 | 7 |
| 4 | | 10 | 8 |
| 5 | | 10 | 7 |
| 6 | | 9 | 8 |
| 7 | | 11 | 8 |
| 8 | | 10 | 9 |
| 9 | | 10 | 9 |
| 10 | | 11 | 9 |
| 11 | | 11 | 9 |
| 12 | | 11 | 9 |
| 13 | | 14 | 13 |
| 14 | | 13 | 14 |
| 15 | | 13 | 13 |

ANEXO ° 3

SECUENCIA DE FOTOS

3.1 *Preparación de soluciones de Quitosano*



3.2 *Ácido acético al 2% para la solución de Quitosano*



3.3 Balanza donde se pesó 3 gramos para la solución de Quitosano al 3%



3.4 Balanza donde se pesó 3 gramos para la solución de Quitosano al 2.5%



3.5 Solución de Quitosano en estufa para mezcla homogénea



3.6 Soluciones de Quitosano en Concentraciones al 2.5% y 3%



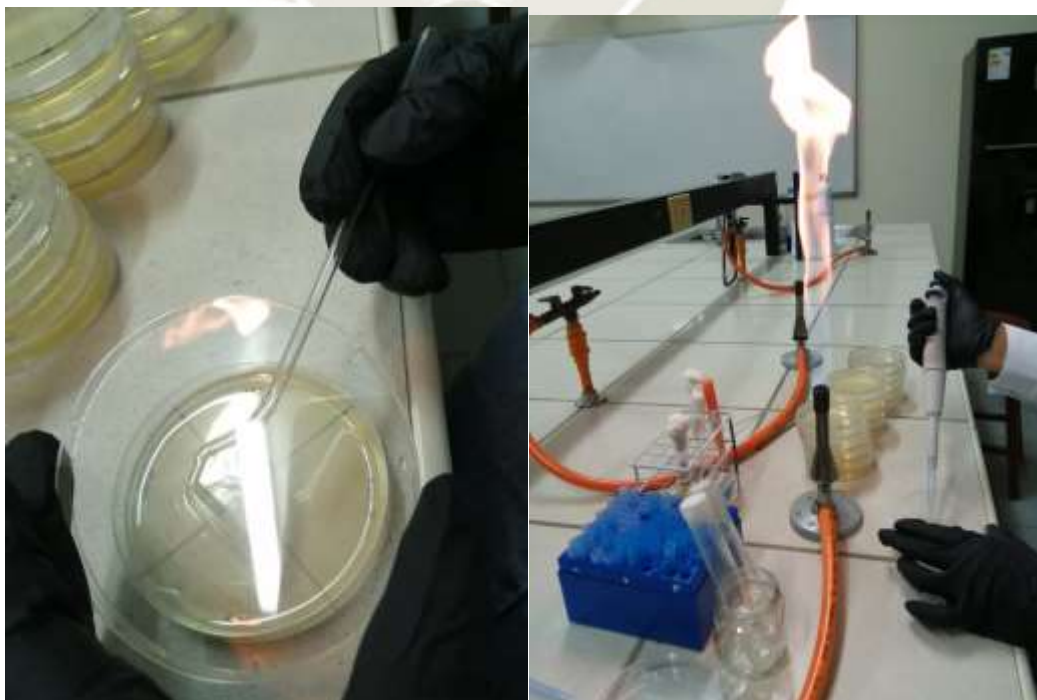
3.7 Preparación del Inoculo de la Cepa *Enterococcus faecalis*



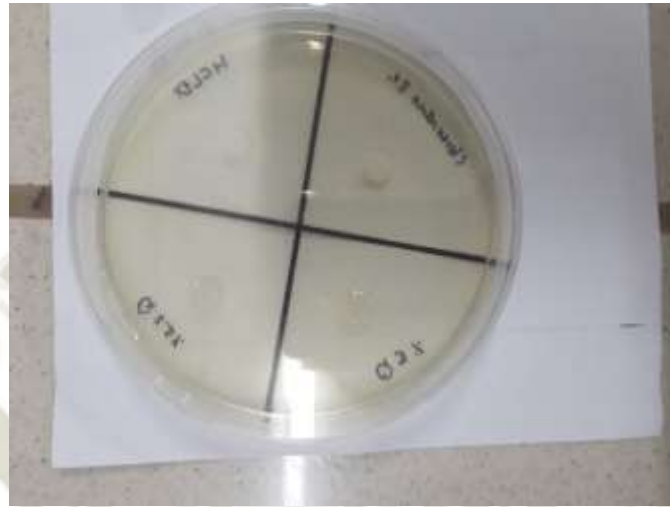
3.8 *Inoculo de Enterococcus faecalis* activado



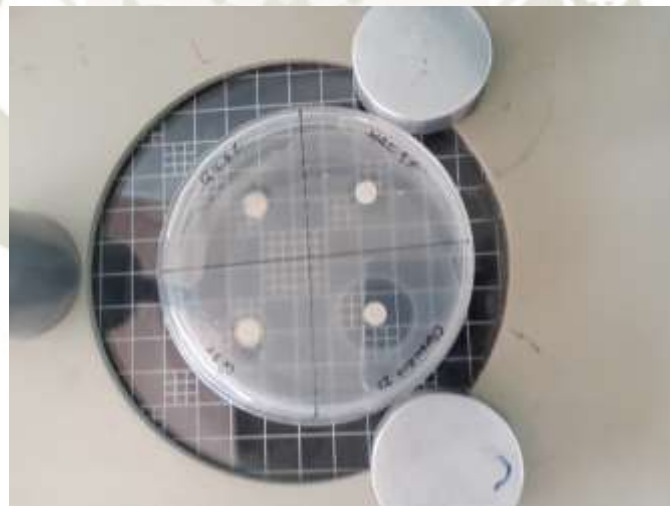
3.9 *Sembrado de las Placas Petri con la cepa de Enterococcus faecalis*



4.0 Placas Petri con discos filtros embebidos en soluciones de Quitosano y clorhexidina



4.1 Medición de halos inhibitorios en placas Petri después de 24 horas de incubación



Halos de inhibición en milímetros

