

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Facultad de Odontología

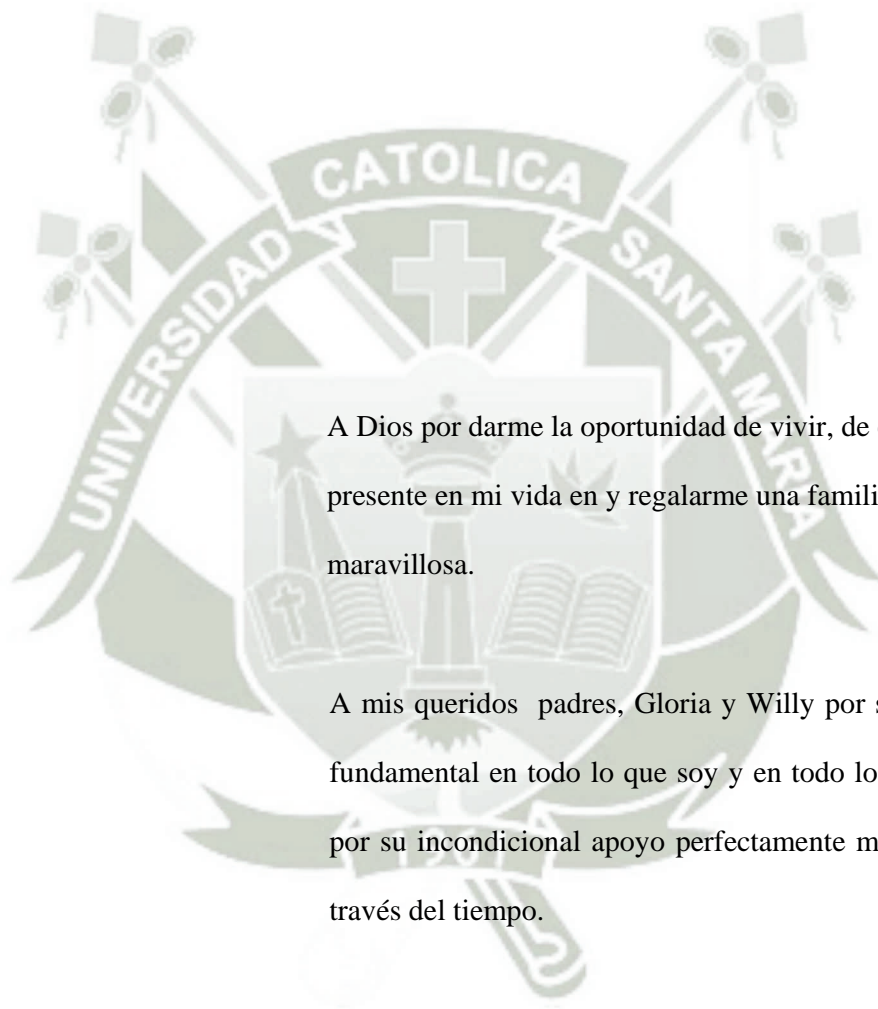
ESPECIALIDAD DE CAREOLOGIA Y ENDODONCIA



EFFECTO IN VITRO DE LA SOLUCIÓN DE CAESALPINIA ESPINOSA AL 60% E HIDRÓXIDO DE CALCIO y GLUCONATO DE CLOREXIDINA al 2% EN EL HALO INHIBITORIO MICROBIANO DE ENTEROCOCCUS FAECALIS. AREQUIPA 2012

Tesis presentado por la
C.D. Vanessa Lissete Bornaz Arenas
para optar al Título de
**Segunda Especialidad en Careología y
Endodoncia**

AREQUIPA – PERÚ
2013



A Dios por darme la oportunidad de vivir, de estar presente en mi vida en y regalarme una familia maravillosa.

A mis queridos padres, Gloria y Willy por ser el pilar fundamental en todo lo que soy y en todo lo que hago, por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo.

A mis hermanos Mila y Memo por darme ánimos constantemente. A mi sobrino Santiago por hacerme sonreír con sus ocurrencias.

INDICE

	Pág.
RESUMEN.....	4
ABSTRACT.....	5
INTRODUCCIÓN.....	6
CAPÍTULO ÚNICO:RESULTADOS.....	8
DISCUSIÓN	55
CONCLUSIONES.....	56
RECOMENDACIONES.....	57
BIBLIOGRAFIA.....	58
HEMEROGRAFÍA.....	59
INFORMATOGRAFIA.....	62
ANEXOS:	63
Anexo 1 Proyecto de Investigación.....	64
Anexo 2 Modelo de Instrumento.....	108
Anexo 3 Matriz de Datos.....	110
Anexo 4 Análisis Estadísticos.....	113
Anexo 5 Secuencia Fotográfica.....	120

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar el halo inhibitorio de la *Caesalpinia Espinosa* (Tara) al 60% sobre la cepa de *Enterococcus Faecalis*, bac bastante conocida por provocar gran porcentaje de fracasos en endodoncia.

El procedimiento consistió en sembrar la cepa *Enterococcus Faecalis* (ATCC 29212) en 16 placas con Agar Cerebro Corazón, las cuales fueron divididas en 3 unidades por placa, evaluándose así 48 unidades de estudio, 24 unidades para el grupo experimental 1 (*Caesalpinia Espinosa* al 60%) y 24 para el grupo experimental 2 (Hidróxido de Calcio + Gluconato de clorhexidina al 2%). Se adicionaron 4 placas petri, 3 para el control positivo (Amoxicilina – Acido Clavulánico) y 1 placa Petri para el control negativo (Suero Fisiológico). Se colocaron sensidiscos embebidos con la solución de *Caesalpinia Espinosa* al 60% y se hizo pozos de 5mm para el Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2%, posteriormente las placas fueron incubadas en cámara de anaerobiosis a una temperatura de 37 °C, tomándose medidas de halo inhibitorio expresado en milímetros a las 24, 48, 72 horas y 7 días.

Los resultados obtenidos fueron sistematizados luego se aplicó el Estadístico T de Student ($p < 0.05$) indicando que el promedio del halo inhibitorio formado por la *Caesalpinia Espinosa* al 60% fue mayor que el halo inhibitorio formado por el Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2%, había diferencia estadísticamente significativa entre los datos obtenidos entre ambos grupos experimentales

En conclusión, la *Caesalpinia Espinosa* al 60% demostró tener efecto antimicrobiano frente a la presencia de *Enterococcus Faecalis*, formando halos de diferentes diámetros en las 4 tomas de medidas que se realizó en este estudio.

Palabras Clave: Antimicrobiano, Fracaso Endodóntico, *Enterococcus Faecalis*, *Caesalpinia Espinosa*, Hidróxido de Calcio y Gluconato de clorhexidina

ABSTRACT

The present study aimed to determine the inhibitory halo *Caesalpinia Espinosa* (Tara) 60% on *Enterococcus Faecalis* strain, well known for causing bacteria large percentage of failures in endodontics.

The procedure consisted in sowing *Enterococcus Faecalis* strain (ATCC 29212) in 16 Brain Heart Agar plates, which were divided into 3 units per plate, evaluated and 48 studio units, 24 units for the experimental group 1 (*Caesalpinia Espinosa* 60 %) and 24 for the experimental group 2 (calcium hydroxide and Chlorhexidine Gluconate 2%). Petri plates were added in April, 3 for the positive control (amoxicillin - clavulanic acid) and a Petri dish for the negative control. Caron was placed sensidisks embedded with prickly *Caesalpinia Espinosa* 60% solution was 5mm wells Calcium Hydroxide and Chlorhexidine Gluconate 2%, the plates were incubated in anaerobic chamber at a temperature of 37 oC, taking inhibitory halo measures expressed in millimeters to 24 , 48, 72 hours and 7 days.

The results were systematized then applied the Student's T-statistic ($p < 0.05$) indicating that the mean inhibitory halo formed by the *Caesalpinia Espinosa* 60% was greater than the inhibitory halo formed by Calcium Hydroxide and Chlorhexidine Gluconate 2%, there was statistically significant difference between the data obtained between both experimental groups.

In conclusion, the *Caesalpinia Espinosa* al 60%, proved to have antimicrobial effect against the presence of *Enterococcus faecalis* forming halos of different diameters on 4 outlets of measures made in this study.

Keywords: Antimicrobial, Endodontic Failure, Enterococcus faecalis, Caesalpinia Espinosa, calcium hydroxide and chlorhexidine gluconate

INTRODUCCIÓN

Unas de las enfermedades más comunes en la humanidad es la caries y ésta tiene como consecuencia la afectación de los tejidos pulpares, en el caso de estar en esta condición se deberá realizar una endodoncia, especialidad de la odontología utilizada para la remoción del tejido pulpar y así remover el daño. Existen medicamentos que se utilizan en esta terapia, algunos de estos medicamentos o la mayor parte de ellos fracasan cuando se enfrentan al *Enterococcus Faecalis*. En la actualidad, según estudios previos, una de las bacterias más persistentes responsable de los fracasos Endodónticos es el *Enterococcus Faecalis* siendo esta cepa resistente a la mayoría de Sustancias utilizadas en Endodoncia.

En la actualidad, se cursa la era de la fotoquímica, y debemos de hacer los esfuerzos para que los productos naturales que posee nuestro país sean utilizados en provecho de nuestra población. La *Caesalpinia Espinosa*, es un producto natural y es utilizado muy frecuentemente en la medicina tradicional obteniendo muy buenos resultados. Ya está demostrada que posee efectos astringentes, antiinflamatorios antisépticos, antimicóticos, antibacterianos, este último siendo de nuestro interés. Es por ello que se ha visto por conveniente que este producto de excelentes propiedades se use en odontología en especial en el tratamiento de conductos radiculares contra agentes microbianos.

A pesar que estamos en una Era Odontológica Preventiva y que la profesión odontológica busca reducir los índices de caries y reducir los índices de higiene oral usando métodos, estrategias y programas preventivos de caries. Estas medidas tendrán su impacto en el futuro mientras que los procedimientos clínicos resuelven el daño que ya está presente, por lo tanto debería tomarse importancia a la necesidad de conservar las piezas ya afectadas por

caries, eliminando los microorganismos más agresivos presentes en piezas necrosadas y poder realizar un tratamiento endodóntico que tengo éxito al 100%.

Se considera importante que se realicen estudios para determinar el efecto antimicrobiano de sustancias alternativas a las que ya existen, siendo las sustancias naturales las más indicadas, debido a que son mejor aceptadas por el organismo presentando menor cantidad de efectos colaterales, siendo éste el objetivo del estudio, determinar el efecto antimicrobiano de una sustancia extraída de un producto natural como es la *Caesalpinia Espinosa*.

La presente investigación consta de un Capítulo Único en el cual se presentan los resultados, los cuales han sido elaborados a exigencia de los objetivos y la hipótesis, mediante tablas y gráficos pertinentes a la naturaleza de las variables. Luego se presenta la Discusión, Conclusiones y Recomendaciones así como la Bibliografía, Hemerografía e Informatografía. Dentro de los Anexos el Proyecto de Investigación organizado en torno al planteamiento teórico y operacional, Instrumento, Matriz de Control y Registro, Análisis Estadístico y Secuencia Fotográfica.



CUADRO N° 1

**EFFECTO DE LA CAESALPINIA ESPINOSA AL 60% EN EL HALO INHIBITORIO
DEL ENTEROCOCCUS FAECALIS**

MEDICIÓN	HALO (mm.)			
	Media	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo
24 horas	9.28	0.38	8.50	9.75
48 horas	9.55	0.31	8.75	9.75
72 horas	9.87	0.31	9.25	10.25
7 días	9.99	0.27	9.50	10.25

Fuente: Matriz de registro y control.

Según los resultados obtenidos podemos indicar que en el grupo experimental CAESALPINIA ESPINOSA al 60% la media del diámetro de la primera lectura es 9.03, lo que indica que la CAESALPINIA ESPINOSA al 60% ha generado un espacio vacío (halo inhibitorio) de 9 mm en el cultivo microbiológico.

Luego en la Segunda lectura la medida fue de 9.55, en la tercera lectura la medida fue de 9.87 y finalmente en la cuarta medida el valor fue de 9.99, lo que indica que el diámetro va aumentando progresivamente.

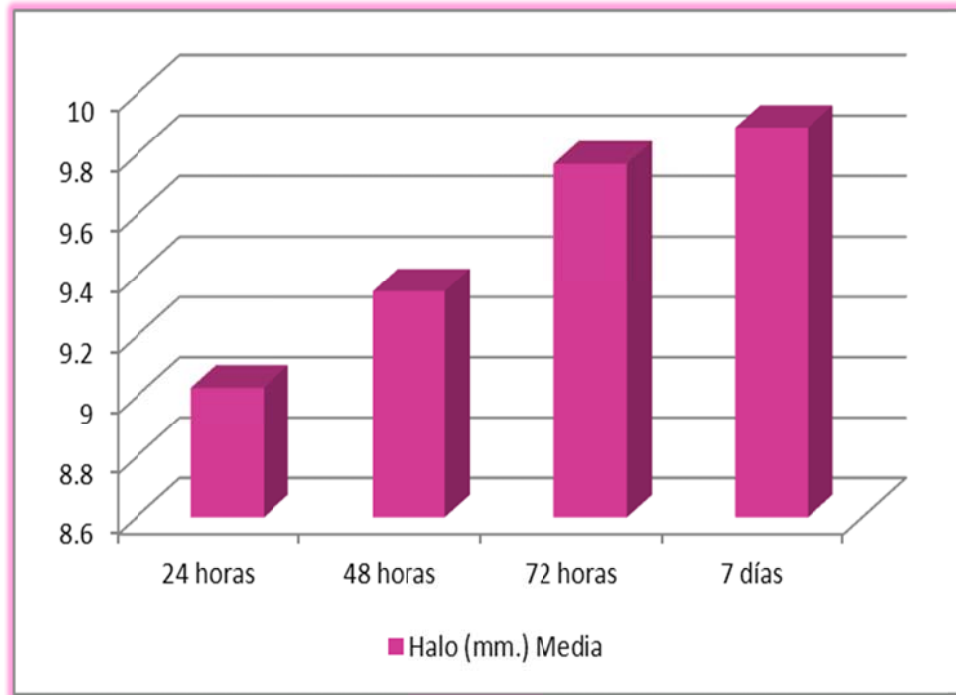
De los datos podemos deducir que el diámetro del día 1 posee una ligera asimetría, posteriormente el día 2 se va tornando menos asimétrico, el día 3 se va acercando más a una distribución normal, de igual forma que en el día 7. La desviación Estándar en la primera medición fue de 0.38 en la segunda de 0.31, en la tercera fue de 0.31, y en la cuarta fue de 0.27, con respecto al mínimo los datos se distribuyen en un rango de 8.5 a 9.5 para el

primer día y el día 7 día respectivamente, lo cual determina que los valores mínimos del día 1 al día 7 fueron aumentando progresivamente, para el máximo los valores fueron de 9.75 para el día 1, 9.75 para el día 2, 10.25 para el día 3 y 10.25 para el día 7. De lo cual se deduce que fue variable los valores máximos con tendencia a aumentar y luego a mantenerse igual entre el 3 día al día 7.



GRÁFICO N° 1

EFECTO DE LA CAESALPINIA ESPINOSA AL 60% EN EL HALO INHIBITORIO DEL ENTEROCOCCUS FAECALIS



Fuente: Matriz de registro y control.

CUADRO N°2

**EFFECTO DEL HIDRÒXIDO DE CALCIO + GLUCONATO DE CLORHEXIDINA
AL 2% EN EL HALO NHIBITORIO DEL ENTEROCOCCUS FAECALIS**

MEDICIÓN	HALO (mm.)			
	Media	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo
24 horas	9.73	0.33	9.25	10.25
48 horas	9.58	0.25	9.25	10.00
72 horas	9.55	0.22	9.25	10.00
7 días	9.60	0.17	9.50	10.00

Fuente: Matriz de registro y control.

Según los resultados obtenidos podemos indicar que en el grupo experimental HIDRÒXIDO DE CALCIO + GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2% la media del diámetro de la primera lectura es 9.73, lo que indica que la HIDRÒXIDO DE CALCIO + GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2% ha generado un espacio vacío (halo inhibitorio) de casi 10 mm en el cultivo microbiológico.

Luego en la Segunda lectura la medida fue de 9.58, en la tercera lectura la medida fue de 9,55 y finalmente en la cuarta medida el valor fue de 9.60, lo que indica que el diámetro fue disminuyendo hasta el 3 día y aumento ligeramente al día 7.

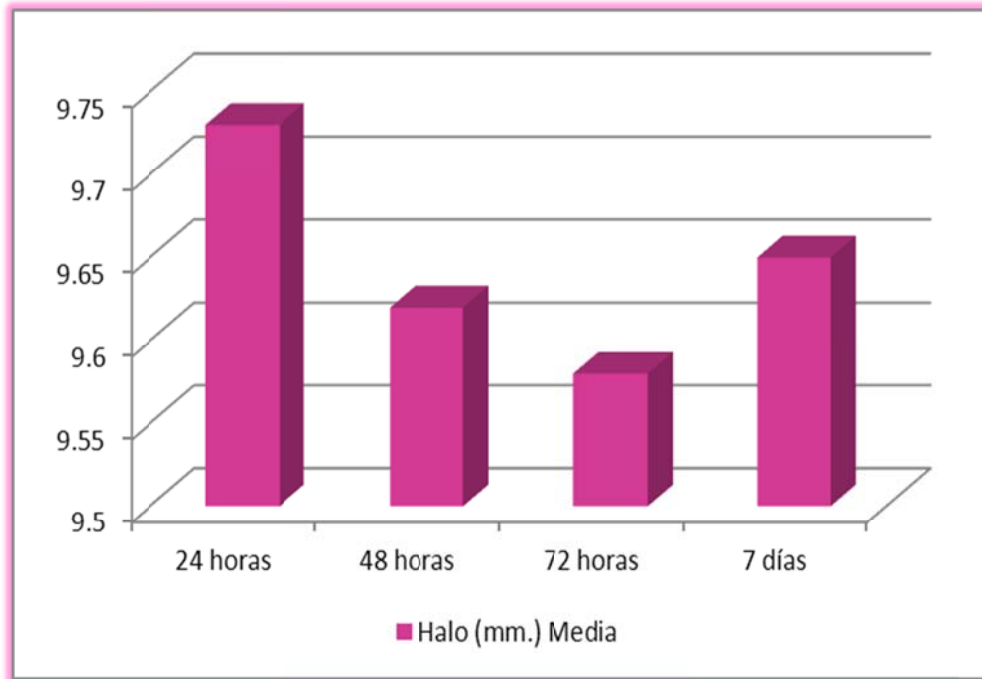
De los datos podemos deducir que el diámetro del día 1 posee una ligera asimetría, posteriormente el día 2 se va tornando menos asimétrico, el día 3 se va acercando más a una distribución normal, de igual forma que en el día 7. La desviación Estándar en la primera medición fue de 0.33 en la segunda de 0.25, en la tercera fue de 0.22, y en la cuarta

fue de 0.17, con respecto al mínimo los datos se distribuyen en un rango de 9.25 a 9.5 para el primer día y el día 7 respectivamente, lo cual determina que los valores mínimos del día 1 al día 3 se mantuvieron iguales y al día 7 aumentó ligeramente, para el máximo los valores fueron de 10.25 para el día 1, 10.00 para el día 2, 10.00 para el día 3 y 10.00 para el día 7. De lo cual se deduce que no hubo mucha variación en los valores máximos con tendencia primero a disminuir y luego a mantenerse igual entre el 2 día al día 7.



GRÁFICO N° 2

EFFECTO DEL HIDRÒXIDO DE CALCIO + GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2% EN EL HALO NHIBITORIO DEL ENTEROCOCCUS FAECALIS



Fuente: Matriz de datos.

CUADRO N° 3

**EFEECTO DEL AMOXICILINA + ACIDO CLAVULANICO EN EL HALO
INHIBITORIO DEL ENTEROCOCCUS FAECALIS**

MEDICIÓN	HALO (mm.)			
	Media	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo
24 horas	16.22	0.34	15.75	16.75
48 horas	16.69	0.34	16.00	17.00
72 horas	16.94	0.41	16.25	17.50
7 días	17.66	0.35	17.00	18.25

Fuente: Matriz de registro y control

Según los resultados obtenidos podemos indicar que en el grupo control AMOXICILINA + ACIDO CALVULÁNICO la media del diámetro de la primera lectura es 16.22, lo que indica que la AMOXICILINA + ACIDO CALVULÁNICO ha generado un espacio vacío (halo inhibitorio) de 16 mm en el cultivo microbiológico.

Luego en la Segunda lectura la medida fue de 16.69, en la tercera lectura la medida fue de 16,94 y finalmente en la cuarta medida el valor fue de 17.66, lo que indica que el diámetro fue aumentando progresivamente del día 1 al día 7.

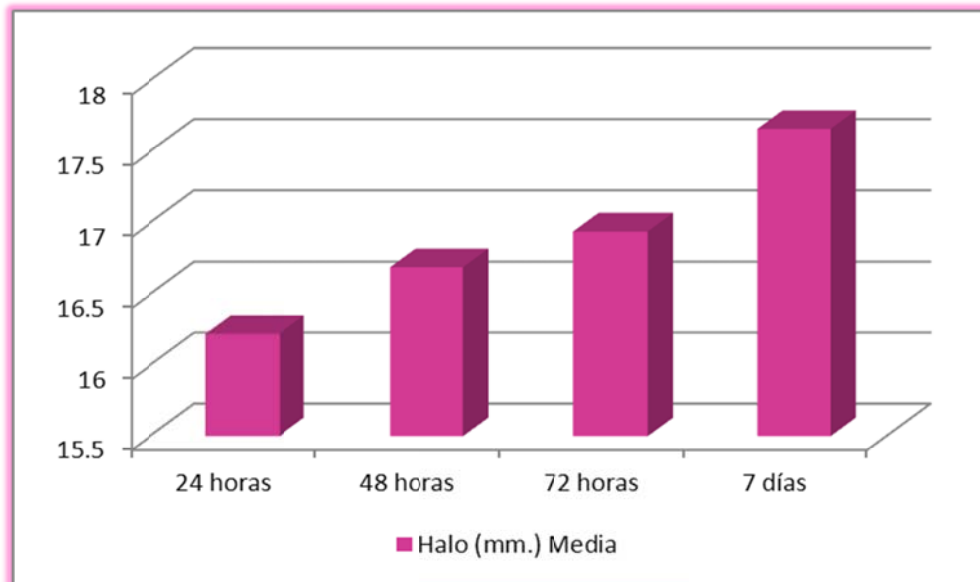
De los datos podemos deducir que el diámetro del día 1 posee una ligera asimetría, posteriormente el día 2 este valor se mantiene, el día 3 los datos se tornan más dispersos y para el día 7 el valor disminuye y se va acercando más a una distribución normal. La desviación Estándar en la primera medición fue de 0.34 en la segunda de 0.34, en la tercera fue de 0.41, y en la cuarta fue de 0.35, con respecto al mínimo los datos se distribuyen en

un rango de 15.75a 17.00 para el primer día y el día 7 respectivamente, lo cual determina que los valores mínimos del día 1 al día 7 fueron aumentando progresivamente, para el máximo los valores fueron de 16.75 para el día 1, 17.00 para el día 2, 17.50 para el día 3 y 18.25 para el día 7. De lo cual se deduce que no hubo mucha variación en los valores máximos con tendencia primero a aumentar ligeramente del día 1 al 3 y luego a aumentar más notoriamente al día 7.



GRÁFICO N°3

EFFECTO DE LA AMOXICILINA + ACIDO CLAVULANICO EN EL HALO INHIBITORIO DEL ENTEROCOCCUS FAECALIS



Fuente: Matriz de registro y control.



CUADRO N°4

**ANÁLISIS COMPARATIVO DEL HALO INHIBITORIO A LAS 24 HORAS PARA
CAESALPINIA ESPINOSA AL 60% Y EL HIDRÓXIDO DE CALCIO +
GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2%**

HALO (mm.) 24 HORAS	GRUPO DE ESTUDIO	
	CAESALPINIA ESPINOSA	CA(OH)₂ + CLORHEXIDINA 2%
Media	9.03	9.73
Desviación Estándar	0.38	0.33
Mínimo	8.50	9.25
Máximo	9.75	10.25
Total	24	24

P = 0.000 (P < 0.05) S.S.

Fuente: Matriz de registro y control.

Con respecto a los valores del promedio para el grupo experimental Caesalpinia Espinosa al 60% es de 9.03 y para el grupo experimental Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% es de 9.73 lo cual determina que la diferencia entre los promedios de ambos halos inhibitorios fue de por lo menos 0.7 mm, siendo el promedio de halos inhibitorios para grupo Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% mayor que el promedio de los halos inhibitorios del grupo Caesalpinia Espinosa al 60%, la Desviación Estándar para el Grupo Caesalpinia Espinosa al 60% es 0.38 y para el grupo Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% es de 0.33, lo cual indica que los datos para el grupo de la Caesalpinia Espinosa al 60% son relativamente más disperso que el otro grupo experimental. con respecto al valor mínimo para el grupo Caesalpinia Espinosa al 60% es de 8.5 y para el grupo Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% 9.25, el valor máximo para el grupo Caesalpinia Espinosa al 60% es de 9.75 y para el grupo Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% es de 10.25,

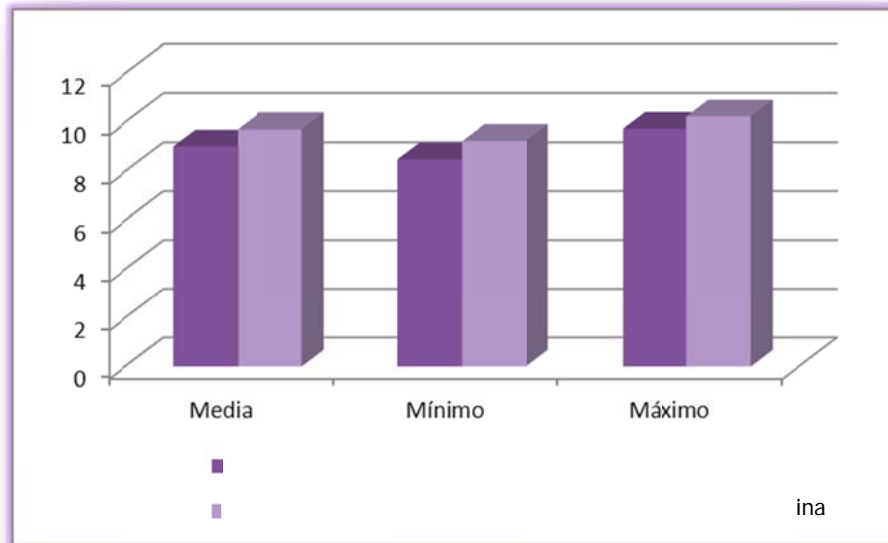
tanto para los valores máximos y mínimos para el primer día de toma de datos, el grupo experimental *Caesalpinia Espinosa* al 60% presentaba valores ligeramente más bajos a comparación del grupo experimental.

Se observa que los promedios son diferentes y ambas distribuciones estadísticas tienen rangos variados para los valores obtenidos a las 24 hrs. Aplicando la fórmula estadística T de Student, se comprobó que había diferencia estadística altamente significativa entre los valores de ambos grupos.



GRÁFICO N°4

ANÁLISIS COMPARATIVO DEL HALO INHIBITORIO A LAS 24 HORAS PARA CAESLPINIA ESPINOSA AL 60% Y EL HIDRÓXIDO DE CALCIO + GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2%



Fuente: Matriz de registro y control.



CUADRO N°5

**ANÁLISIS COMPARATIVO DEL HALO INHIBITORIO A LAS 48 HORAS PARA
CAESALPINIA ESPINOSA AL 60% Y EL HIDRÓXIDO DE CALCIO +
GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2%**

HALO (mm.) 48 HORAS	GRUPO DE ESTUDIO	
	CAESALPINIA ESPINOSA	CA(OH) ₂ + CLORHEXIDINA 2%
Media	9.35	9.62
Desviación Estándar	0.31	0.25
Mínimo	8.75	9.25
Máximo	9.75	10.00
Total	24	24

Fuente: Matriz de registro y control.

P = 0.054 (P < 0.05) N.S.

Con respecto a los valores del promedio para el grupo experimental Caesalpinia Espinosa al 60% es de 9.35 y para el grupo experimental Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% es de 9.62 lo cual determina que la diferencia entre los promedios de ambos halos inhibitorios fue de por lo menos 0.27 mm, siendo el promedio de halos inhibitorios para grupo Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% mayor que el promedio de los halos inhibitorios del grupo Caesalpinia Espinosa al 60%, la Desviación Estándar para el Grupo Caesalpinia Espinosa al 60% es 0.31 y para el grupo Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% es de 0.25, lo cual indica que los datos para el grupo de la Caesalpinia Espinosa al 60% son relativamente más disperso que el otro grupo experimental. Con respecto al valor mínimo para el grupo Caesalpinia Espinosa al 60% es de 8.75 y para el grupo Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% 9.25, el valor máximo para el grupo Caesalpinia Espinosa al 60% es

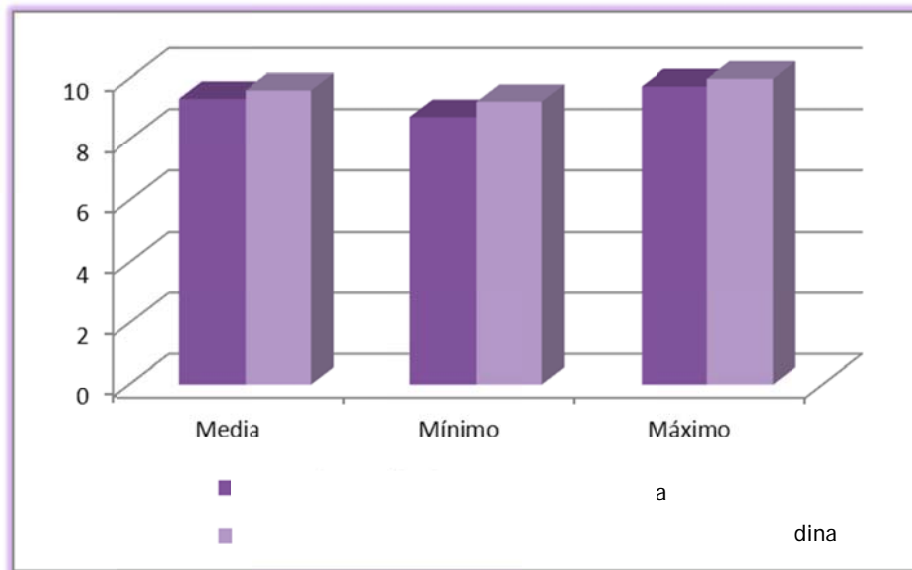
de 9.75 y para el grupo Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% es de 10.00, tanto para los valores máximos y mínimos para las 48 Hrs de toma de datos, el grupo experimental Caesalpinia Espinosa al 60% presentaba valores ligeramente más bajos a comparación del otro grupo experimental.

Se observa que los promedios son ligeramente diferentes y ambas distribuciones estadísticas tienen rangos variados para los valores obtenidos a las 48 Hrs. Aplicando la fórmula estadística T de Student, se comprobó que no había diferencia estadísticamente significativa entre los valores de ambos grupos.



GRÁFICO N°5

ANÁLISIS COMPARATIVO DEL HALO INHIBITORIO A LAS 48 HORAS PARA CAESLPINIA ESPINOSA AL 60% Y EL HIDRÓXIDO DE CALCIO + GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2%



Fuente: Matriz de registro y control

CUADRO N°6

**ANÁLISIS COMPARATIVO DEL HALO INHIBITORIO A LAS 72 HORAS PARA
CAESALPINIA ESPINOSA AL 60% Y EL HIDRÓXIDO DE CALCIO +
GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2%**

HALO (mm.) 72 HORAS	GRUPO DE ESTUDIO	
	CAESALPINIA ESPINOSA	CA(OH) ₂ + CLORHEXIDINA 2%
Media	9.77	9.58
Desviación Estándar	0.31	0.22
Mínimo	9.25	9.25
Máximo	10.25	10.00
Total	24	24

Fuente: Matriz de registro y control.

P = 0.022 (P < 0.05) S.S

Con respecto a los valores del promedio para el grupo experimental Caesalpinia Espinosa al 60% es de 9.77 y para el grupo experimental Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% es de 9.58 lo cual determina que la diferencia entre los promedios de ambos halos inhibitorios fue de por lo menos 0.19 mm, siendo el promedio de halos inhibitorios para grupo Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% menor que el promedio de los halos inhibitorios del grupo Caesalpinia Espinosa al 60%, la Desviación Estándar para el Grupo Caesalpinia Espinosa al 60% es 0.31 y para el grupo Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% es de 0.22, lo cual indica que los datos para el grupo de la Caesalpinia Espinosa al 60% son relativamente más disperso que el otro grupo experimental. Con respecto al valor mínimo para el grupo Caesalpinia Espinosa es de 9.25 y para el grupo Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% 9.25, el valor máximo para el grupo Caesalpinia Espinosa al 60% es de 10.25 y para el grupo Hidróxido

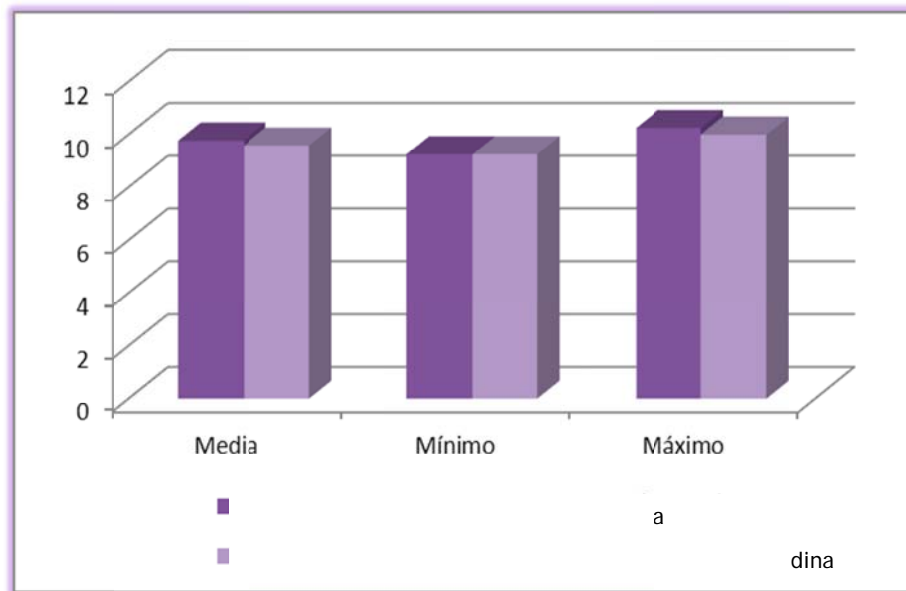
de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% es de 10.00, el grupo experimental Caesalpinia Espinosa al 60% presentaba valores ligeramente más altos en los valores máximos a comparación del otro grupo experimental en los valores mínimos ambos valores son iguales.

Se observa que los promedios son ligeramente diferentes y ambas distribuciones estadísticas tienen rangos variados para los valores obtenidos a las 72 Hrs. Aplicando la fórmula estadística T de Student, se comprobó que había diferencia estadísticamente significativa entre los valores de ambos grupos.



GRÁFICO N°6

ANÁLISIS COMPARATIVO DEL HALO INHIBITORIO A LAS 72 HORAS PARA CAESLPINIA ESPINOSA AL 60% Y EL HIDRÓXIDO DE CALCIO + GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2%



Fuente: Matriz de registro y control

CUADRO N°7

**ANÁLISIS COMPARATIVO DEL HALO INHIBITORIO A LOS 7 DÍAS PARA
CAESALPINIA ESPINOSA AL 60% Y EL HIDRÓXIDO DE CALCIO +
GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2%**

HALO (mm.) 7 DÍAS	GRUPO DE ESTUDIO	
	CAESALPINIA ESPINOSA	CA(OH) ₂ + CLORHEXIDINA 2%
Media	9.89	9.65
Desviación Estándar	0.27	0.17
Mínimo	9.50	9.50
Máximo	10.25	10.00
Total	24	24

P = 0.001 (P < 0.05) S.S

Fuente: Matriz de registro y control.

Con respecto a los valores del promedio para el grupo experimental Caesalpinia Espinosa al 60% es de 9.89 y para el grupo experimental Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% es de 9.65 lo cual determina que la diferencia entre los promedios de ambos halos inhibitorios fue de por lo menos 0.24 mm, siendo el promedio de halos inhibitorios para grupo Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% menor que el promedio de los halos inhibitorios del grupo Caesalpinia Espinosa al 60%, la Desviación Estándar para el Grupo Caesalpinia Espinosa al 60% es 0.27 y para el grupo Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2 % es de 0.17, lo cual indica que los datos para el grupo de la Caesalpinia Espinosa al 60% son relativamente más disperso que el otro grupo experimental. Con respecto al valor mínimo para el grupo Caesalpinia Espinosa al 60% es de 9.50 y para el grupo Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% 9.50, el valor máximo para el grupo Caesalpinia Espinosa al 60% es de 10.25 y para el grupo

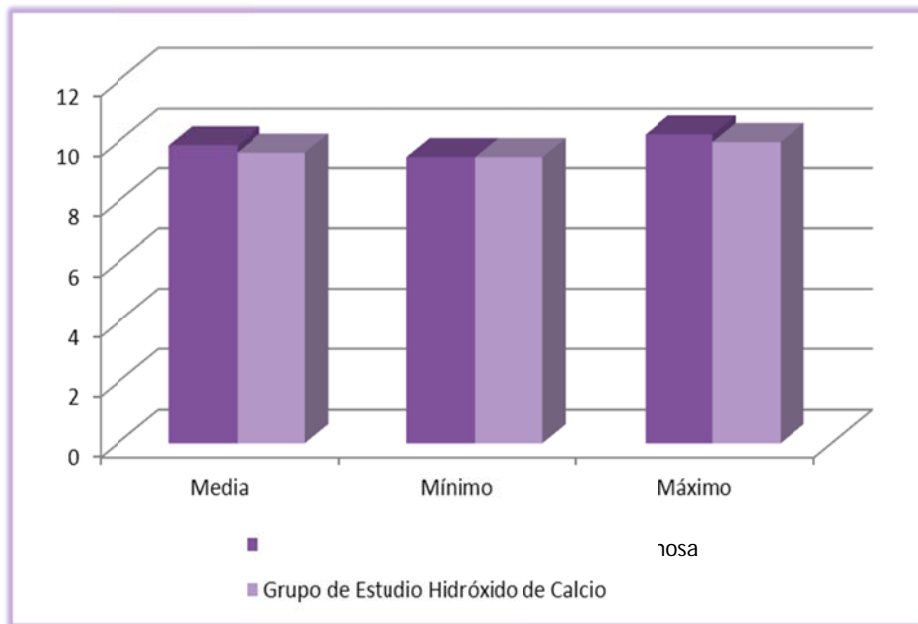
Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% es de 10.00, los valores máximos para el séptimo día de toma de datos, el grupo experimental Caesalpinia Espinosa al 60% presentaba valores ligeramente más altos a comparación del otro grupo experimental. A diferencia del valor mínimo en el cual los valores son iguales

Se observa que los promedios son diferentes y ambas distribuciones estadísticas tienen rangos variados para los valores obtenidos el día 7. Aplicando la fórmula estadística T de Student, se comprobó que había diferencia estadísticamente significativa entre los valores de ambos grupos.



GRÁFICO N°7

ANÁLISIS COMPARATIVO DEL HALO INHIBITORIO A LOS 7 DÍAS PARA CAESLPINIA ESPINOSA AL 60% Y EL HIDRÓXIDO DE CALCIO + GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2%



Fuente: Matriz de registro y control.

CUADRO N°8

**ANÁLISIS COMPARATIVO DEL HALO INHIBITORIO A LAS 24 HORAS PARA
CAESALPINIA ESPINOSA AL 60% Y LA AMOXICILINA + ÁCIDO
CLAVULÁNICO (CONTROL POSITIVO)**

HALO (mm.) 24 HORAS	GRUPO DE ESTUDIO	
	CAESALPINIA ESPINOSA	AMOXICILINA – ÁC. CLAVULÁNICO
Media	9.03	16.22
Desviación Estándar	0.38	0.34
Mínimo	8.50	15.75
Máximo	9.75	16.75
Total	24	9

Fuente: Matriz de registro y control. **P = 0.000 (P < 0.05) S.S.**

Con respecto a los valores del promedio para el grupo experimental Caesalpinia Espinosa al 60% es de 9.03 y para el grupo control es de 16.22 lo cual determina que la 7.19 de diferencia entre los promedios de ambos halos inhibitorios fue de por lo menos 0.27 mm, siendo el promedio de halos inhibitorios para grupo control mayor que el promedio de los halos inhibitorios del grupo Caesalpinia Espinosa al 60%, la Desviación Estándar para el Grupo Caesalpinia Espinosa al 60% es 0.38 y para el grupo control es de 0.34, lo cual indica que los datos para el grupo de la Caesalpinia Espinosa al 60% son relativamente más disperso que el grupo control. Con respecto al valor mínimo para el grupo Caesalpinia Espinosa al 60% es de 8.5 y para el grupo control es de 15.75, el valor máximo para el grupo Caesalpinia Espinosa al 60% es de 9.75 y para el grupo control es de 16.75, tanto para los valores máximos y mínimos para el primer día de toma de datos, el grupo

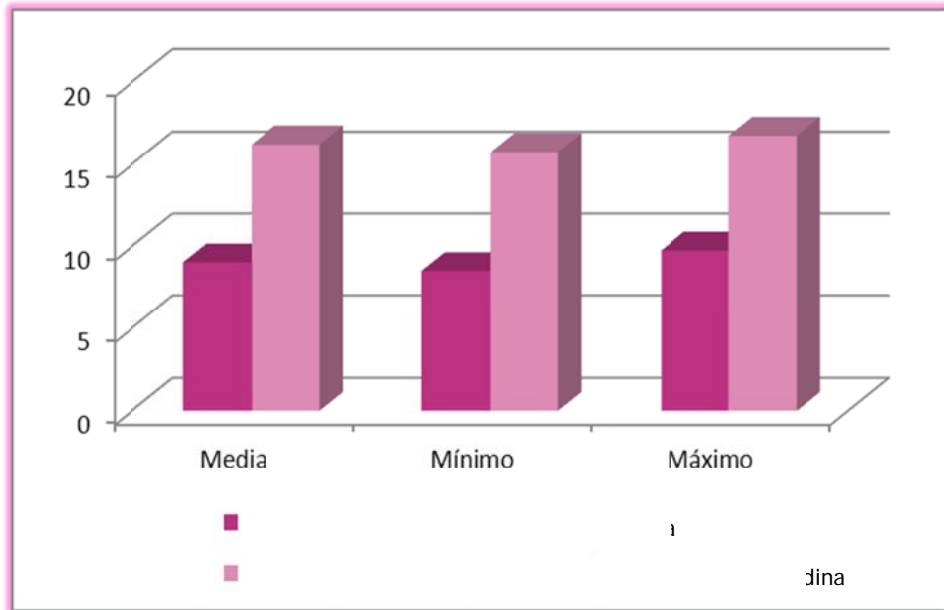
experimental *Caesalpinia Espinosa* al 60% presentaba valores más bajos a comparación del grupo control.

Se observa que los promedios son diferentes y ambas distribuciones estadísticas tienen rangos variados para los valores obtenidos a las 24 Hrs. Aplicando la fórmula estadística T de Student, se comprobó que había diferencia estadística altamente significativa entre los valores de ambos grupos.



GRÁFICO N°8

ANÁLISIS COMPARATIVO DEL HALO INHIBITORIO A LAS 24 HORAS PARA CAESLPINIA ESPINOSA AL 60% Y LA AMOXICILINA + ÁCIDO CLAVULÁNICO (CONTROL POSITIVO)



Fuente: Matriz de registro y control.

CUADRO N°9

**ANÁLISIS COMPARATIVO DEL HALO INHIBITORIO A LAS 48 HORAS PARA
CAESALPINIA ESPINOSA AL 60% Y LA AMOXICILINA + ÁCIDO
CLAVULÁNICO (CONTROL POSITIVO)**

HALO (mm.) 48 HORAS	GRUPO DE ESTUDIO	
	CAESALPINIA ESPINOSA	AMOXICILINA – ÁC. CLAVULÁNICO
Media	9.35	16.69
Desviación Estándar	0.31	0.34
Mínimo	8.75	16.00
Máximo	9.75	17.00
Total	24	9

Fuente: Matriz de registro y control.

P = 0.000 (P < 0.05) S.S

Con respecto a los valores del promedio para el grupo experimental Caesalpinia Espinosa al 60% es de 9.35 y para el grupo control es de 16.69 lo cual determina que la diferencia entre los promedios de ambos halos inhibitorios fue de por lo menos 7.34 mm, siendo el promedio de halos inhibitorios para grupo control mayor que el promedio de los halos inhibitorios del grupo Caesalpinia Espinosa al 60%, la Desviación Estándar para el Grupo Caesalpinia Espinosa al 60% es 0.31 y para el grupo control es de 0.34, lo cual indica que los datos para el grupo control son relativamente más disperso que el otro grupo experimental. Con respecto al valor mínimo para el grupo Caesalpinia Espinosa al 60% es de 8.75 y para el grupo control es de 16.00, el valor máximo para el grupo Caesalpinia Espinosa al 60% es de 9.75 y para el grupo control es de 17.00, tanto para los valores máximos y mínimos para el segundo día de toma de datos, el grupo experimental

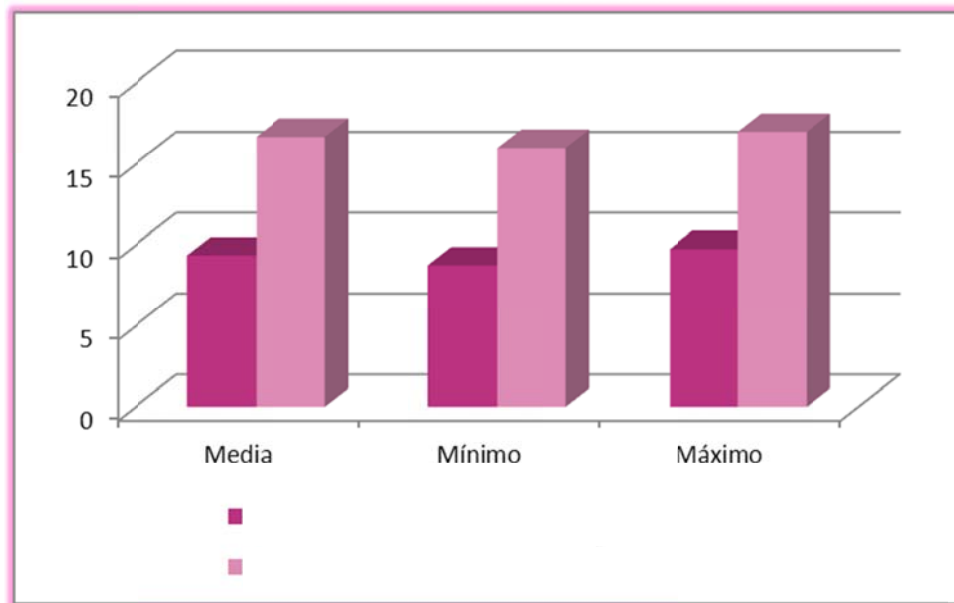
Caesalpinia Espinosa al 60% presentaba valores más bajos a comparación del grupo control.

Se observa que los promedios son diferentes y ambas distribuciones estadísticas tienen rangos variados para los valores obtenidos a las 48 Hrs. Aplicando la fórmula estadística T de Student, se comprobó que había diferencia estadística altamente significativa entre los valores de ambos grupos.



GRÁFICO N°9

ANÁLISIS COMPARATIVO DEL HALO INHIBITORIO A LAS 48 HORAS PARA CAESLPINIA ESPINOSA AL 60% Y LA AMOXICILINA + ÁCIDO CLAVULÁNICO (CONTROL POSITIVO)



Fuente: Matriz de registro y control.

CUADRO N°10

**ANÁLISIS COMPARATIVO DEL HALO INHIBITORIO A LAS 72 HORAS PARA
CAESALPINIA ESPINOSA AL 60% Y LA AMOXICILINA + ÁCIDO
CLAVULÁNICO (CONTROL POSITIVO)**

HALO (mm.) 72 HORAS	GRUPO DE ESTUDIO	
	CAESALPINIA ESPINOSA	AMOXICILINA – ÁC. CLAVULÁNICO
Media	9.77	16.94
Desviación Estándar	0.31	0.41
Mínimo	9.25	16.25
Máximo	10.25	17.50
Total	24	9

Fuente: Matriz de registro y control.

P = 0.000 (P < 0.05) S.S

Con respecto a los valores del promedio para el grupo experimental Caesalpinia Espinosa al 60% es de 9.77 y para el grupo control es de 16.94 lo cual determina que la diferencia entre los promedios de ambos halos inhibitorios fue de por lo menos 7.17 mm, siendo el promedio de halos inhibitorios para grupo control mayor que el promedio de los halos inhibitorios del grupo Caesalpinia Espinosa al 60%, la Desviación Estándar para el Grupo Caesalpinia Espinosa al 60% es 0.31 y para el grupo control es de 0.41, lo cual indica que los datos para el grupo control son relativamente más disperso que el otro grupo experimental. Con respecto al valor mínimo para el grupo Caesalpinia Espinosa al 60% es de 9.25 y para el grupo control es de 16.25, el valor máximo para el grupo Caesalpinia Espinosa al 60% es de 10.25 y para el grupo control es de 17.50, tanto para los valores

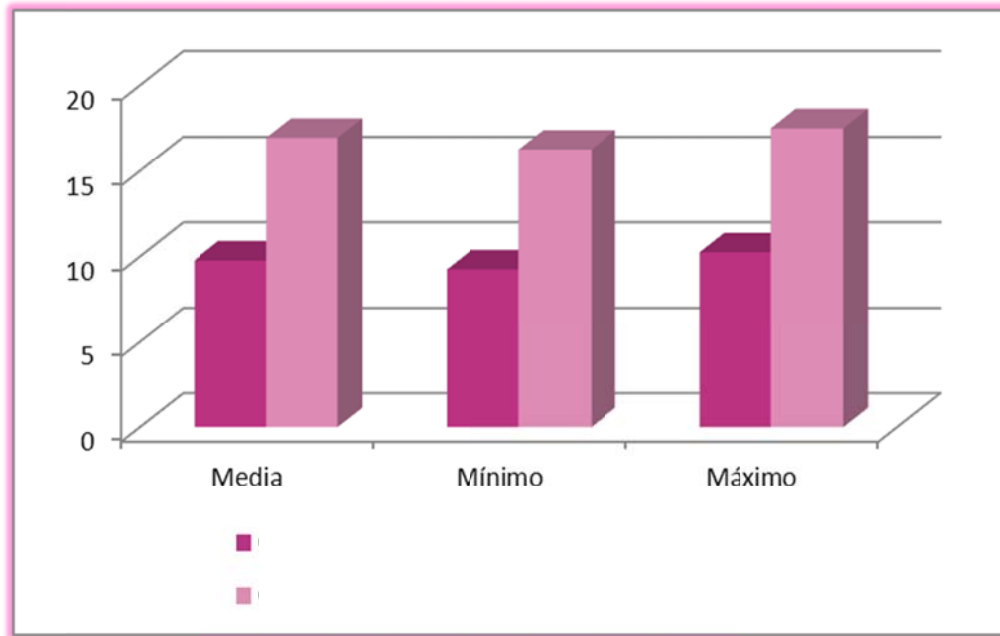
máximos y mínimos para el tercer día de toma de datos, el grupo experimental Caesalpinia Espinosa al 60% presentaba valores más bajos a comparación del otro grupo control.

Se observa que los promedios son diferentes y ambas distribuciones estadísticas tienen rangos variados para los valores obtenidos a las 72 Hrs. Aplicando la fórmula estadística T de Student, se comprobó que había diferencia estadística altamente significativa entre los valores de ambos grupos.



GRÁFICO N°10

ANÁLISIS COMPARATIVO DEL HALO INHIBITORIO A LAS 72 HORAS PARA CAESLPINIA ESPINOSA AL 60% Y LA AMOXICILINA + ÁCIDO CLAVULÁNICO (CONTROL POSITIVO)



Fuente: Matriz de registro y control.

CUADRO N°11

**ANÁLISIS COMPARATIVO DEL HALO INHIBITORIO A LOS 7 DÍAS PARA
CAESALPINIA ESPINOSA AL 60% Y LA AMOXICILINA + ÁCIDO
CLAVULÁNICO (CONTROL POSITIVO)**

HALO (mm.) 7 DÍAS	GRUPO DE ESTUDIO	
	CAESALPINIA ESPINOSA	AMOXICILINA – ÁC. CLAVULÁNICO
Media	9.89	17.66
Desviación Estándar	0.27	0.35
Mínimo	9.50	17.00
Máximo	10.25	18.25
Total	24	9

Fuente: Matriz de registro y control.

P = 0.000 (P < 0.05) S.S

Con respecto a los valores del promedio para el grupo experimental Caesalpinia Espinosa al 60% es de 9.89 y para el grupo control es de 17.66 lo cual determina que la diferencia entre los promedios de ambos halos inhibitorios fue de por lo menos 7.77 mm, siendo el promedio de halos inhibitorios para grupo control mayor que el promedio de los halos inhibitorios para grupo experimental. Con respecto a la Desviación Estándar para el Grupo Caesalpinia Espinosa al 60% es 0.27 y para el grupo control es de 0.35, lo cual indica que los datos para el grupo control son relativamente más disperso que el otro grupo experimental. Con respecto al valor mínimo para el grupo Caesalpinia Espinosa al 60% es de 9.5 y para el grupo control es de 17.00, el valor máximo para el grupo Caesalpinia Espinosa al 60% es de 10.25 y para el grupo control es de 18.25, tanto para los valores máximos y mínimos para el séptimo día de toma de datos, el grupo experimental

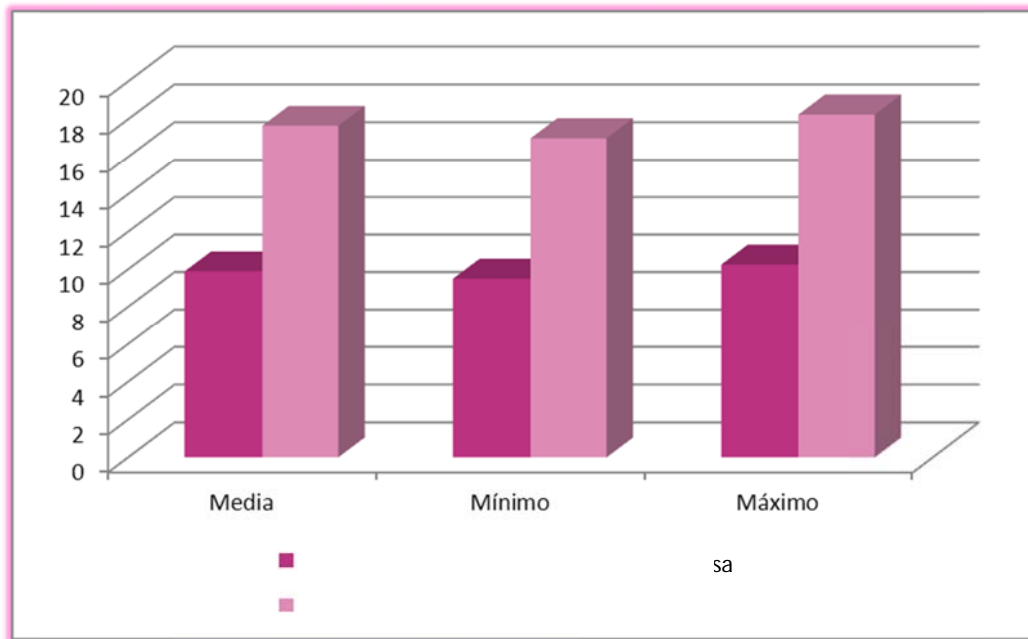
Caesalpinia Espinosa al 60% presentaba valores más bajos a comparación del otro grupo control.

Se observa que los promedios son diferentes y ambas distribuciones estadísticas tienen rangos variados para los valores obtenidos el día 7. Aplicando la fórmula estadística T de Student, se comprobó que había diferencia estadística altamente significativa entre los valores de ambos grupos.



GRÁFICO N°11

ANÁLISIS COMPARATIVO DEL HALO INHIBITORIO A LOS 7 DÍAS PARA CAESLPINIA ESPINOSA AL 60% Y LA AMOXICILINA + ÁCIDO CLAVULÁNICO (CONTROL POSITIVO)



Fuente: Matriz de registro y control.

CUADRO N°12

**ANÁLISIS COMPARATIVO DEL HALO INHIBITORIO A LAS 24 HORAS PARA
HIDRÓXIDO DE CALCIO + GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2% Y LA
AMOXICILINA + ÁCIDO CLAVULÁNICO (CONTROL POSITIVO)**

HALO (mm.) 24 HORAS	GRUPO DE ESTUDIO	
	CA(OH) ₂ + CLORHEXIDINA 2%	AMOXICILINA – ÁC. CLAVULÁNICO
Media	9.73	16.22
Desviación Estándar	0.33	0.34
Mínimo	9.25	15.75
Máximo	10.25	16.75
Total	24	9

Fuente: Matriz de registro y control.

P = 0.000 (P < 0.05) S.S.

Con respecto a los valores del promedio para el grupo experimental Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% es de 9.73 y para el grupo control es de 16.22 lo cual determina que la diferencia entre los promedios de ambos halos inhibitorios fue de por lo menos 6.49 mm, siendo el promedio de halos inhibitorios para grupo control mayor que el promedio de los halos inhibitorios del grupo experimental Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2%, la Desviación Estándar para el Grupo experimental Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% es 0.33 y para el grupo control es de 0.34, lo cual indica que los datos para el grupo control son relativamente más disperso que el otro grupo experimental. Con respecto al valor mínimo para el grupo experimental Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% es de 9.25 y para el grupo control es de 15.75, el valor máximo para el grupo experimental Hidróxido de Calcio + Gluconato

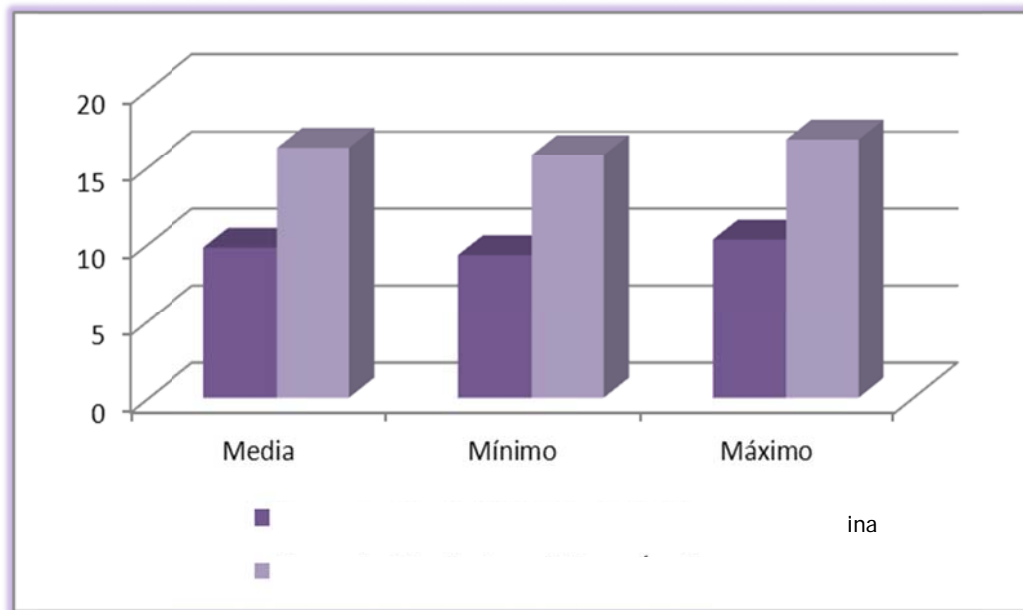
de Clorhexidina al 2% es de 10.25 y para el grupo control es de 16.75, tanto para los valores máximos y mínimos para el primer día de toma de datos, el grupo experimental Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% presentaba valores más bajos a comparación del otro grupo control.

Se observa que los promedios son diferentes y ambas distribuciones estadísticas tienen rangos variados para los valores obtenidos a las 24 Hrs. Aplicando la fórmula estadística T de Student, se comprobó que había diferencia estadística altamente significativa entre los valores de ambos grupos.



GRÁFICO N°12

**ANÁLISIS COMPARATIVO DEL HALO INHIBITORIO A LAS 24 HORAS PARA
HIDRÓXIDO DE CALCIO + GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2% Y LA
AMOXICILINA + ÁCIDO CLAVULÁNICO (CONTROL POSITIVO)**



Fuente: Matriz de registro y control.



CUADRO N°13

**ANÁLISIS COMPARATIVO DEL HALO INHIBITORIO A LAS 48 HORAS PARA
HIDRÓXIDO DE CALCIO + GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2% Y LA
AMOXICILINA + ÁCIDO CLAVULÁNICO (CONTROL POSITIVO)**

HALO (mm.) 48 HORAS	GRUPO DE ESTUDIO	
	CA(OH) ₂ + CLORHEXIDINA 2%	AMOXICILINA – ÁC. CLAVULÁNICO
Media	9.62	16.69
Desviación Estándar	0.25	0.34
Mínimo	9.25	16.00
Máximo	10.00	17.00
Total	24	9

Fuente: Matriz de registro y control. **P = 0.000 (P < 0.05) S.S**

Con respecto a los valores del promedio para el grupo experimental Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% es de 9.62 y para el grupo control es de 16.69 lo cual determina que la diferencia entre los promedios de ambos halos inhibitorios fue de por lo menos 7.07 mm, siendo el promedio de halos inhibitorios para grupo control mayor que el promedio de los halos inhibitorios del grupo experimental Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2%, la Desviación Estándar para el Grupo experimental Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% es 0.25 y para el grupo control es de 0.34, lo cual indica que los datos para el grupo control son relativamente más disperso que el otro grupo experimental. Con respecto al valor mínimo para el grupo experimental Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% es de 9.25 y para el grupo control es de 16.00, el valor máximo para el grupo experimental Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% es de 10.00 y para el grupo control es de 17.00, tanto para los

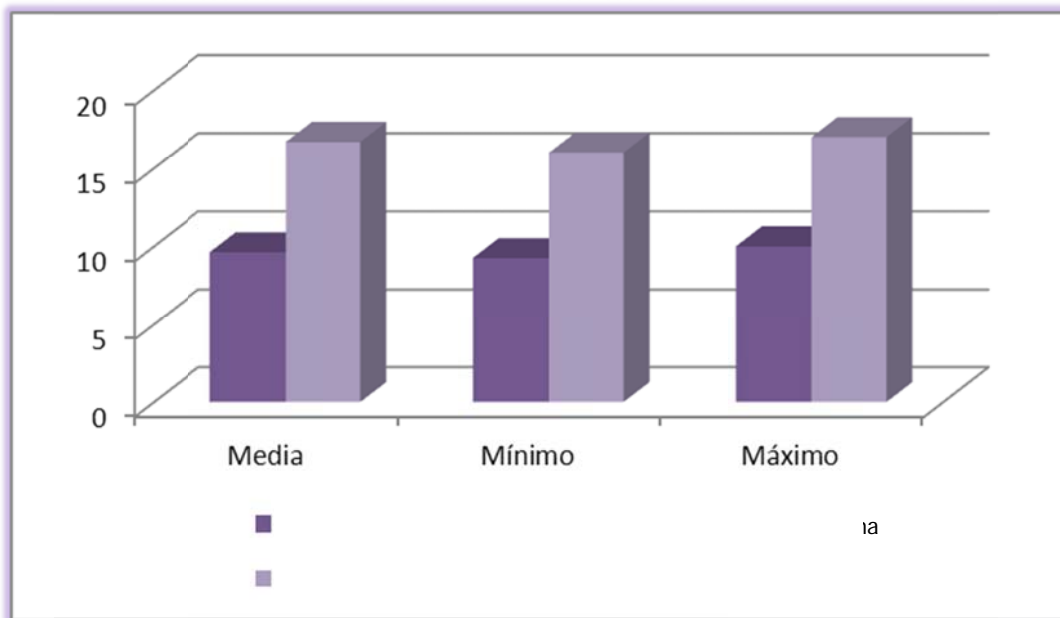
valores máximos y mínimos para el segundo día de toma de datos, el grupo experimental Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% presentaba valores más bajos a comparación del otro grupo control.

Se observa que los promedios son diferentes y ambas distribuciones estadísticas tienen rangos variados para los valores obtenidos a las 48 Hrs. Aplicando la fórmula estadística T de Student, se comprobó que había diferencia estadística altamente significativa entre los valores de ambos grupos.



GRÁFICO N°13

ANÁLISIS COMPARATIVO DEL HALO INHIBITORIO A LAS 48 HORAS PARA HIDRÓXIDO DE CALCIO + GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2% Y LA AMOXICILINA + ÁCIDO CLAVULÁNICO (CONTROL POSITIVO)



Fuente: Matriz de registro y control.



CUADRO N°14

**ANÁLISIS COMPARATIVO DEL HALO INHIBITORIO A LAS 72 HORAS PARA
HIDRÓXIDO DE CALCIO + GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2% Y LA
AMOXICILINA + ÁCIDO CLAVULÁNICO (CONTROL POSITIVO)**

HALO (mm.) 72 HORAS	GRUPO DE ESTUDIO	
	CA(OH) ₂ + CLORHEXIDINA 2%	AMOXICILINA – ÁC. CLAVULÁNICO
Media	9.58	16.94
Desviación Estándar	0.22	0.41
Mínimo	9.25	16.25
Máximo	10.00	17.50
Total	24	9

Fuente: Matriz de registro y control.

P = 0.000 (P < 0.05) S.S.

Con respecto a los valores del promedio para el grupo experimental Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% es de 9.58 y para el grupo control es de 16.94 lo cual determina que la diferencia entre los promedios de ambos halos inhibitorios fue de por lo menos 7.36 mm, siendo el promedio de halos inhibitorios para grupo control mayor que el promedio de los halos inhibitorios del grupo experimental Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2%, la Desviación Estándar para el Grupo experimental Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% es 0.22 y para el grupo control es de 0.41, lo cual indica que los datos para el grupo control son más disperso que el otro grupo experimental. Con respecto al valor mínimo para el grupo experimental Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% es de 9.25 y para el grupo control es de 16.25, el valor máximo para el grupo experimental Hidróxido de Calcio + Gluconato de

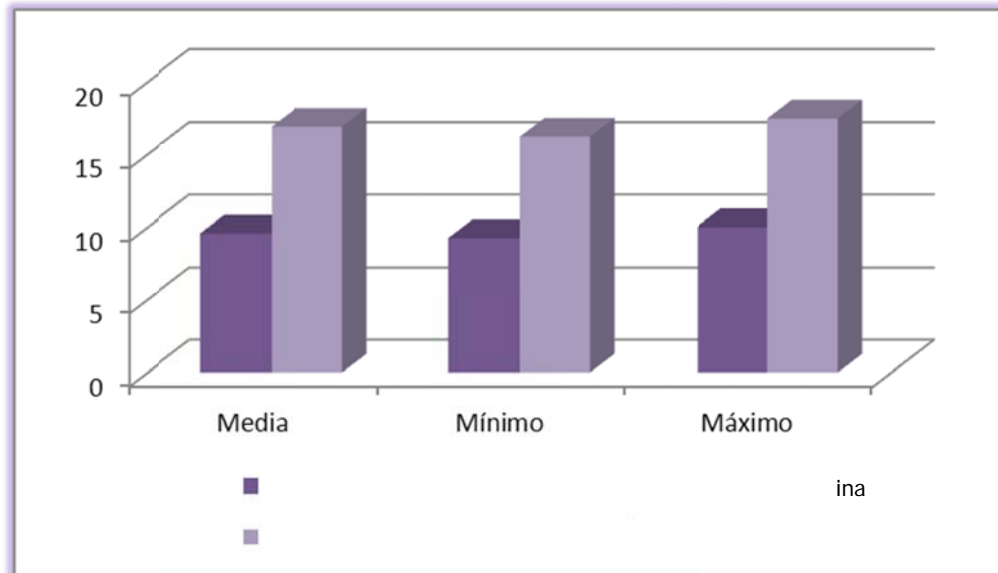
Clorhexidina al 2% es de 10.00 y para el grupo control es de 17.50, tanto para los valores máximos y mínimos para el tercer día de toma de datos, el grupo experimental Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% presentaba valores más bajos a comparación del otro grupo control.

Se observa que los promedios son diferentes y ambas distribuciones estadísticas tienen rangos variados para los valores obtenidos a las 72 Hrs. Aplicando la fórmula estadística T de Student, se comprobó que había diferencia estadística altamente significativa entre los valores de ambos grupos.



GRAFICO N°14

**ANÁLISIS COMPARATIVO DEL HALO INHIBITORIO A LAS 72 HORAS PARA
HIDRÓXIDO DE CALCIO + GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2% Y LA
AMOXICILINA + ÁCIDO CLAVULÁNICICO (CONTROL POSITIVO)**



Fuente: Matriz de registro y control.



CUADRO N°15

**ANÁLISIS COMPARATIVO DEL HALO INHIBITORIO A LOS 7 DÍAS PARA
HIDRÓXIDO DE CALCIO + GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2% Y LA
AMOXICILINA + ÁCIDO CLAVULÁNICO (CONTROL POSITIVO)**

HALO (mm.) 7 DÍAS	GRUPO DE ESTUDIO	
	CA(OH) ₂ + CLORHEXIDINA 2%	AMOXICILINA – ÁC. CLAVULÁNICO
Media	9.65	17.66
Desviación Estándar	0.17	0.35
Mínimo	9.50	17.00
Máximo	10.00	18.25
Total	24	9

Fuente: Matriz de registro y control.

P = 0.000 (P < 0.05) S.S

Con respecto a los valores del promedio para el grupo experimental Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% es de 9.65 y para el grupo control es de 17.66 lo cual determina que la diferencia entre los promedios de ambos halos inhibitorios fue de por lo menos 8.01 mm, siendo el promedio de halos inhibitorios para grupo control mayor que el promedio de los halos inhibitorios del grupo experimental Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2%, la Desviación Estándar para el Grupo experimental Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% es 0.17 y para el grupo control es de 0.35, lo cual indica que los datos para el grupo control son más disperso que el otro grupo experimental. Con respecto al valor mínimo para el grupo experimental Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% es de 9.50 y para el grupo control es de 17.00, el valor máximo para el grupo experimental Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% es de 10.00 y para el grupo control es de 18.25, tanto para los valores

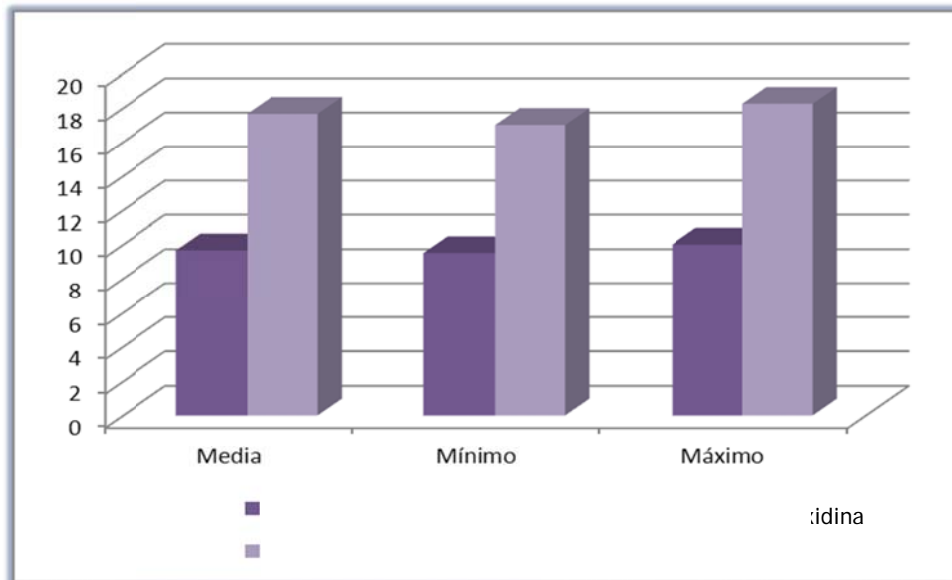
máximos y mínimos para el sétimo día de toma de datos, el grupo experimental Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2 % presentaba valores más bajos a comparación del otro grupo control.

Se observa que los promedios son diferentes y ambas distribuciones estadísticas tienen rangos variados para los valores obtenidos a los 7 días. Aplicando la fórmula estadística T de Student, se comprobó que había diferencia estadística altamente significativa entre los valores de ambos grupos.



GRÁFICO N°15

**ANÁLISIS COMPARATIVO DEL HALO INHIBITORIO A LOS 7 DÍAS PARA
HIDRÓXIDO DE CALCIO + GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2% Y LA
AMOXICILINA + ÁCIDO CLAVULÁNICO (CONTROL POSITIVO)**



Fuente: Matriz de registro y control.



DISCUSIÓN

- Kloucek, P y col. Realizó un ensayo antimicrobiano sobre extractos etanólicos al 80% de nueve plantas obtenidos por maceración durante 5 días, una de las muestras ensayadas fue la *C. spinosa* (vainas); se utilizaron cinco cepas Gram positivas y tres Gram negativas. Los resultados para *Enterococcus faecalis* en el que se observó una CIM de 0,5 mg/ml, mientras que para *Bacillus cereus* fue de 8, y de 16 para las otras bacterias, lo cual determina la especificidad y gran poder antimicrobiano de la tara frente a *Enterococcus Faecalis*, lo concuerda con nuestro estudio en el que también se observó una actividad antibacteriana notoria.
- Liu H. Y col. Realizó un ensayo sobre la actividad antimicrobiana sobre la actividad antimicrobiana del extracto de Tara obtenido de las vainas, lo cual determina que las vainas poseen mayor efecto antimicrobiano sobre cepas gram positivas que el extracto de las semillas, lo cual concuerda con nuestro estudio debido a que el extracto que se preparo de las vainas de tara tuvo poder antimicrobiano sobre el *Enterococcus Faecalis* que está considerado como un Gram Positivo.
- Martínez L y col. Realizaron un ensayo sobre la actividad antibacteriana del Hidróxido de Calcio solo y con gluconato de Clorhexidina comprobando la actividad antimicrobiana de dicha medicación a las 24, 48 y 72 horas. Lo cual coincide con nuestro estudio donde también se comprobó el poder antimicrobiano en las tomas de medida.

CONCLUSIONES

- PRIMERA: El efecto de la Caesalpinia Espinosa al 60% en el halo inhibitorio del Enterococcus Faecalis en promedio fue de 9.67 mm con una desviación estándar de 0,31.
- SEGUNDA: El efecto del Hidróxido de Calcio + Gluconato de clorhexidina 2% en el halo inhibitorio del Enterococcus Faecalis en promedio fue de 9.62 mm con una desviación estándar de 0.24
- TERCERA: Hubo diferencia significativa al comparar el efecto de la Caesalpinia Espinosa al 60% y el Hidróxido de Calcio + Gluconato de clorhexidina 2% en el halo inhibitorio del Enterococcus Faecalis, esto con un margen de error del 5%.
- CUARTA: La hipótesis nula fue rechazada, debido a que el efecto antimicrobiano de la caesalpinia Espinosa al 60% fue mayor que el del Hidróxido de Calcio + Gluconato de clorhexidina 2% en el halo inhibitorio del Enterococcus Faecalis, por lo tanto fue aceptada la hipótesis alterna

RECOMENDACIONES

- Al nivel del Instituto Nacional de Salud se le recomienda hacer ensayos clínicos con la Caesalpinia Espinosa para poder determinar el efecto antibacteriano en otro tipo de microorganismos presentes en otras patologías.
- A nivel de la Universidad se le recomienda continuar con las investigaciones, de esta sustancia, ampliando el número de muestras e investigando el efecto del producto contra otros medicamentos, aumentar el tiempo de toma de datos, de igual forma verificar que la concentración de la sustancia de Caesalpinia Espinosa no es tóxica para tejidos vivos.
- A nivel de Colegio Odontológico se recomienda propiciar el uso de extractos de origen natural en el tratamiento de los pacientes en la consulta privada.
- A los profesionales se les recomienda investigar o conocer la existencia de estos fármacos naturales para que puedan incorporarlos en su práctica clínica, en beneficio del paciente y para la obtención de tratamientos exitosos.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

1. Canalda C. Medicación intraconducto. En: Canalda C, Brau E, editores. Endodoncia. Técnicas clínicas y Bases científicas. España Saragoza. Editorial Masson, 2001.
2. Ingle J, Simon J, Walton R, Pashley D, Bakland L, Heithersay G, et al. Patología pulpar: etiología y prevención. En Ingle J, Bakland L, editores. Endodoncia. 5ta edición. México. Mc Graw Hill Interamericana, 2004.
3. Tronstad L. Endodoncia clínica, Barcelona, Graffing 1993.
4. Craig J Bakland L, Sugita E. Microbiología de la endodoncia y Asepsia en la práctica endodóntica. México editores: Endodoncia. McGraw-hill Interamericana 2003.
5. Leonardo MR, Leal JM. Endodoncia. México, Editorial Interamericana X Edición 1994.
6. Mahair P. Gupta. 270 plantas medicinales iberoamericanas. Programa iberoamericano de ciencia y tecnología para el desarrollo. Colombia. Convenio Andrés Bello. Editorial Presencia Ltda 2005.
7. Pitt Ford. Endodoncia en la práctica clínica. Harty México. McGraw Hill Interamericana. 4ta Edición 2000.
8. Yolken R. Editores. Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology 2002
9. Jett B, Huycke M. Gilmore M. Virulence of Enterococci. Clin Microbiol Rev. 1994

HEMEROGRAFÍA

1. Al-Kahtani A, Shostad S, Schifferle R, Bhambhani S. In-Vitro evaluation of microleakage of an orthograde apical plug of mineral trioxide aggregate in permanent teeth with simulated immature apices. J. Endod.2005 Feb.
2. Almyroudi A, Mackenzie D, McHugh S ,Saunders W P ,Edin F D S.: The effectiveness of various disinfectants used as endodontic intracanal medications: An In Vitro Study.J Endodont, March 2003.
3. Andrade Ferreira FB et al. Evaluation of ph Levels and calcium ion release in various calcium hydroxide endodontics dressings. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodon 2004.
4. Barbosa C A M, Gonçalves R B, Siqueira Jr J F, Uzeda M.: Evaluation of the antibacterial activities of calcium hydroxide, chlorhexidine, and camphorated paramonochlorophenol as intracanal medicament. A Clinical and Laboratory Study. J Endodont, May ,1997.
5. Barriga, C. Cultivo y Aprovechamiento de la Tara, *Caesalpinia spinosa*, en la Región Andina. Informe Técnico. Lima. 2008.
6. Basrani B, Ghanem A, Tjäderhane L. Physical and Chemical properties of chlorhexidine and calcium hydroxide-containing medications. J of Endod 2004.
7. Behnen M, West L, Liewehr F, Buxton T, Mcpherson J. Antimicrobial activity of several calcium hydroxide preparations in root canal dentin. J Endod 2001 Dec.
8. Berbert F L C. Leonardo M R. Silva L A B. Tanomaru Filho M, Bramante C M.: Influence of root canal dressings and sealers on repair of apical periodontitis after endodontic treatment; Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod., 2002.

9. Ercan E, Özekinci T, Atakui F, Gül K. Antibacterial activity of 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite in infected root canal: in vivo study. *J of Endod* 2004 Feb.
10. Evans M, Craig J, Khemaleelakul S, Xia T. Efficacy of calcium hydroxide: chlorhexidine paste as an intracanal medication in bovine dentin. *J Endod* 2003 May.
11. Fouad A, Kim K, Clawson M, Barry J, Abenoja C, Zhu Q, et al. Molecular characterization of the presence of *Eubacterium* spp. and *Streptococcus* spp. in endodontic infections. *Oral Microbiol Immunol* 2003.
12. George S, Kishen A, Song K. The Role of Environmental Changes on Monospecies Biofilm Formation on Root Canal Wall by *Enterococcus faecalis*. *J Endod*. 2005.
13. Jett B, Huycke M, Gilmore M. Virulence of Enterococci. *Clin Microbiol Rev*. 1994.
14. Lana M, Ribeiro-Sobrinho A, Stehling R, Garcia G, Hamdan J et al. Microorganisms isolated from root canals present in necrotic pulp and their drug susceptibility in vitro. *Oral Microbiol Immunol* 2001.
15. Lima K, Fava L, Siqueira J. Susceptibilities of *Enterococcus faecalis* biofilms to some antimicrobial medications. *J Endod*. 2001.
16. Lin S, Zuckerman O, Weiss E, Mazor Y, Fuss Z. Antibacterial efficacy of a new chlorhexidine slow release device to disinfect dentinal tubules. *J of Endod* 2003 Jun.
17. Nakajo K, et al. Resistance to acidic and alkaline environments in the endodontic pathogen *Enterococcus faecalis*. *Oral Microbiol Immunol*. 2006.
18. Portenier I, Waltimo T, Haapasalo M. *Enterococcus Fecalis* and endodontic; the root canal survivor and “star” in post-treatment disease. *Endod. Topics* 2003.
19. Siqueira J. Taxonomic changes of bacteria associated with endodontic infections. *J of Endod* 2003 Oct.

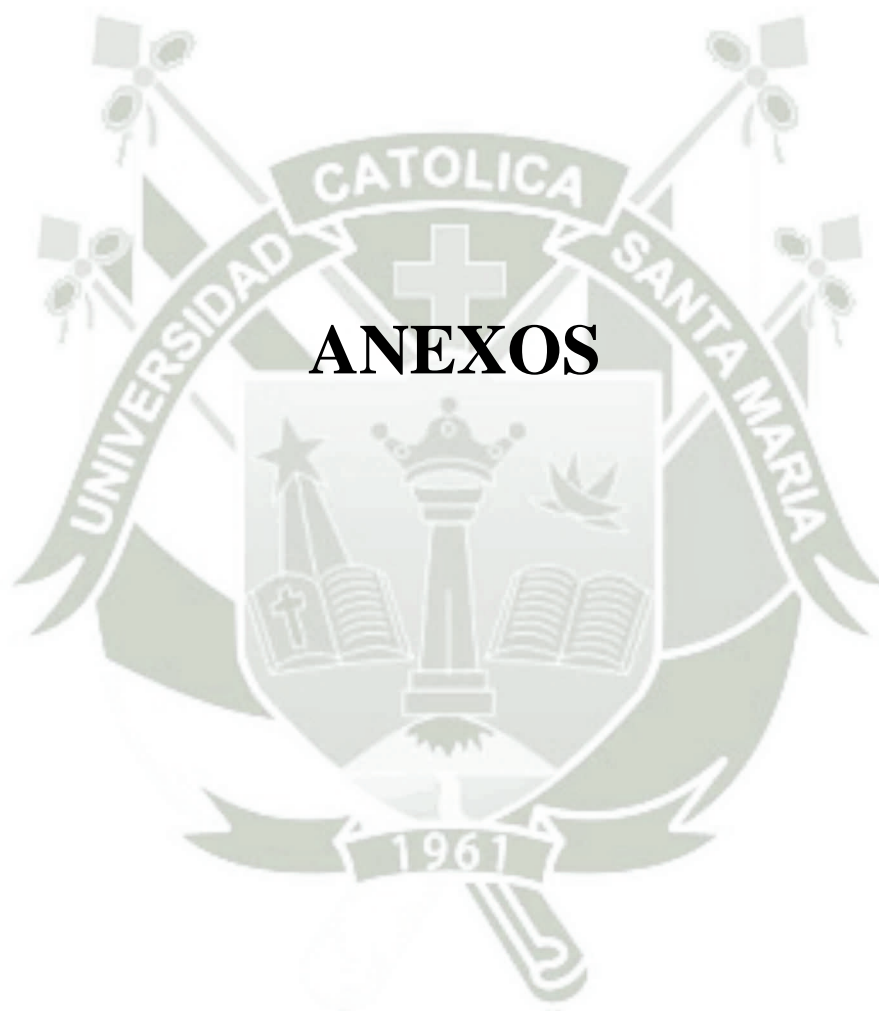
20. Siqueira Jr J F, Sen B I.: Fungi in endodontic infection; Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2004.
21. Solak H, Oztan. The pH changes of four different calcium hydroxide mixtures used or for Intracanal medication. J of Oral Rehabilitation 2003.
22. Stuart C. Schwartz S. Beeson T, Owatz C. Enterococcus Faecalis: Its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. J Endod. 2006.
23. Sundqvist G, Figdor D. Life as an endodontic pathogen. Ecological differences between the untreated and root-filled root canals. Endod Topics. 2003.
24. Weber C, McClanahan S, Millar G, Diener-West M, Jonson J. The effect of passive ultrasonic activation of 2% chlorhexidine or 5.25% sodium hypochlorite irrigant on residual antimicrobial activity in root canals. J of Endod 2003 Sept.
25. Yolken R. Editores. Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology 2002.

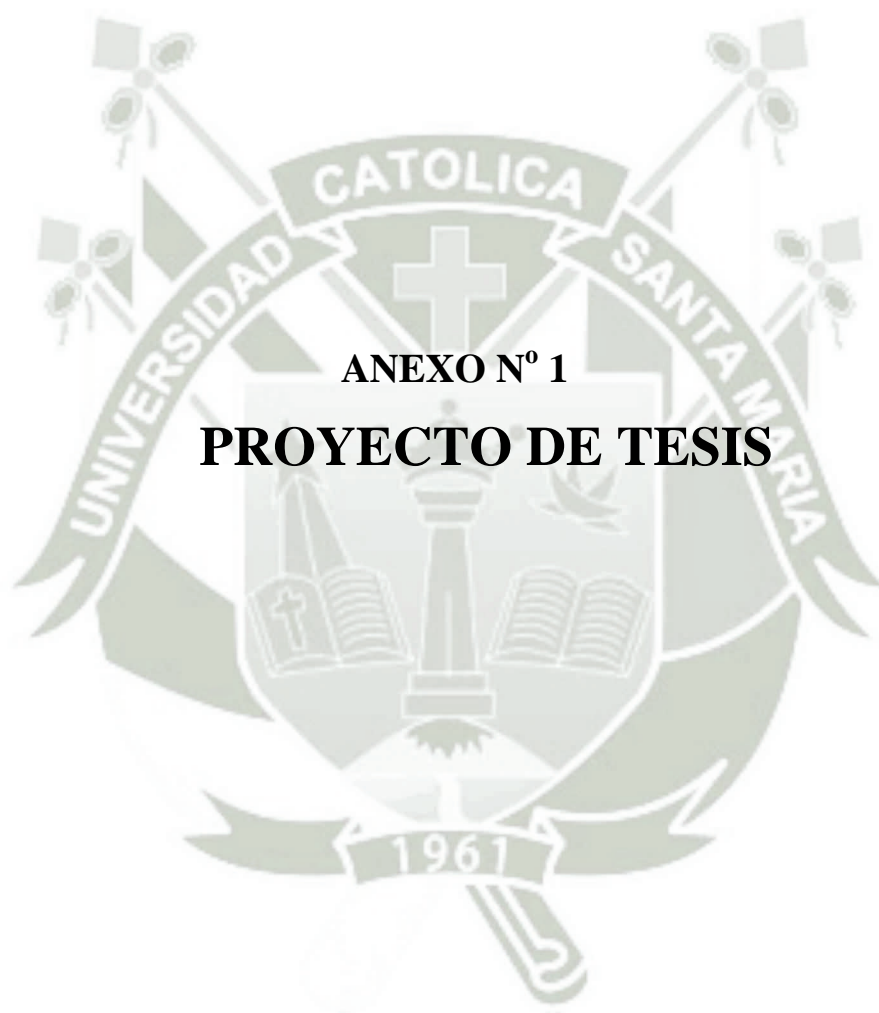


INFORMATOGRAFIA

1. www.tanino.tripod.com / Diciembre 2012
2. www.peruprom.com/hogar/lejia.html / Diciembre 2013
3. www.riie.com.pe/?a=29384 / Marzo 2013
4. www.taraexport.com/?cont=2&idioma=es / Abril 2013







ANEXO N° 1

PROYECTO DE TESIS

I PLANTEAMIENTO TEÓRICO

1 PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.-

1.1 DETERMINACION DEL PROBLEMA

Dentro de la literatura científica en nuestro medio, se encuentran muy pocos reportes estadísticos, sobre el éxito al 100% de sustancias intraconducto sobre *Enterococcus Faecalis*. Esta falta de información motiva a la investigadora a hacer una búsqueda, más exhaustiva, con la finalidad de investigar si existen sustancias alternativas a las ya utilizadas en endodoncia que tengan éxito sobre la cepa de *Enterococcus Faecalis*. Es por ello que la presente investigación se realiza en los laboratorios de la Universidad Católica de Santa María para determinar el comportamiento de una sustancia natural como la *Caesalpinia Espinosa* al 60% comparándola con Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2 % sobre la cepa de *Enterococcus Faecalis* una de las cepas más resistente responsable del fracaso endodóntico.

1.2 ENUNCIADO DEL PROBLEMA.-

“EFECTO IN VITRO DE LA SOLUCIÓN DE CAESALPINIA ESPINOSA AL 60% E HIDRÓXIDO DE CALCIO y GLUCONATO DE CLOREXHIDINA al 2% EN EL HALO INHIBITORIO MICROBIANO DE ENTEROCOCCUS FAECALIS.AREQUIPA 2012”

1.3 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

a) Análisis De Variables

VARIABLES		INDICADORES	SUBINDICADORES
VARIABLE ESTIMULO 1	CAESALPINA ESPINOSA 60%	Concentración Optima	Mg/ml
VARIABLE ESTIMULO 2	HIDROXIDO DE CALCIO + GLUCONATO DE CLORHEXIDINA 2%		
VARIABLE RESPUESTA	HALO INHIBITORIO MICROBIANO DE ENTEROCOCCUS FAECALIS	Diámetro del halo inhibitorio	Mm

b) Área de Conocimiento

- Área General: Ciencias de la Salud
- Área Específica: Odontología
- Especialidad: Careología y Endodoncia
- Tópico: Microbiología

c) Interrogantes Básicas.-

1. ¿Cuál será efecto de la Caesalpinia Espinosa 60% en el halo inhibitorio microbiano de Enterococcus Faecaelis?
2. ¿Cómo será el efecto del Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% en el halo inhibitorio microbiano de Enterococcus Faecaelis?

3. ¿El efecto de la Caesalpinia Espinosa al 60% en el halo inhibitorio del Enterococcus Faecalis será mayor que el efecto del Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% en el halo inhibitorio del Enterococcus Faecalis?

d) Taxonomía de la Investigación.-

- Tipo de Investigación:
De laboratorio, longitudinal
- Nivel de Investigación:
Cuasi Experimental.

1.4 JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA.-

La presente investigación está basada en estudios preliminares en los cuales se ha comprobado la capacidad antibacteriana tanto de la Caesalpinia Espinosa al 60% en otras especialidades y del Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% en endodoncia, por lo tanto es relevante determinar si la Caesalpinia espinosa al 60% que es una sustancia extraída de un producto natural tiene propiedades terapéuticas que podrían ser utilizadas en el tratamiento de conductos radiculares.

Actualmente el uso de medicinas naturales está siendo bien aceptadas por la población, por la menor cantidad de efectos adversos, por lo tanto debemos de hacer los esfuerzos para utilizar sustancias de origen natural que sean más beneficiosas para nuestros tratamientos.

Por otro lado es muy conocida por diferentes estudios, la relación entre el *Enterococcus Faecalis* y las lesiones peri radiculares persistentes. Dicho microorganismo es capaz de sobrevivir en ambientes áridos con poca cantidad de oxígeno y nutrientes, así como también es capaz de formar biopelículas. De tal manera que puede sobrevivir frente a protocolos de irrigación, medicación y materiales de obturación.

Es por ello el interés de desarrollar una sustancia utilizada natural como medicación intraconducto con propiedades terapéuticas que ayude a eliminar el *Enterococcus Faecalis* y que al mismo tiempo permita obtener resultados iguales o más óptimos a otros medicamentos intraconducto del mercado en función al beneficio de los pacientes.

Por lo tanto el presente estudio tiene como principal objetivo. Evaluar la efectividad en la disminución del número de microorganismos de la cepa *Enterococcus Faecalis* con CAESALPINA ESPINOSA al 60% comparándola con Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% y de tal manera que pueda haber la posibilidad de usar esta sustancia natural como medicación intraconducto en tratamiento endodóntico.

Teniendo esto en cuenta, esta investigación beneficiará a los pacientes en los cuales se usen el producto debido a que se trata de un producto natural que produce menor cantidad de efectos secundarios que otras sustancias en el mercado. Además de poseer una propiedad cicatrizante ayudará a que los tejidos periradulares se desinflan con mayor rapidez.

Sabemos que es importante tratar de buscar alternativas a las sustancias que hoy en día usamos para eliminar microorganismos resistentes y con mucha más razón si estas alternativas son naturales, debido a que son mejor aceptadas por nuestro organismo y pueden producir menor cantidad de efectos colaterales.

Este es un tema de importancia actual, debido al auge que tiene el uso de productos naturales, La Caesalpina Espinosa más conocida como Tara. Árbol oriundo del Perú es utilizado muy frecuentemente en la medicina tradicional obteniendo muy buenos resultados. Según estudios preliminares posee efectos astringentes, antiinflamatorios antisépticos, antimicóticos, antibacterianos y otros efectos utilizados para mejorar la salud. Es por ello que se ha visto por conveniente que este producto de excelentes propiedades se use en odontología en especial en el tratamiento de conductos radiculares contra agentes microbianos resistentes

El realizar el presente estudio se realizará para obtener el título de Segunda Especialidad en Careología y Endodoncia, de acuerdo con las áreas problemáticas relacionadas a Odontología y con el nivel científico requerido por la Facultad de Odontología para una tesis de Especialidad, de igual forma se considera viable porque cuenta con los recursos económicos, humanos e institucionales.

2.-MARCO CONCEPTUAL

2.1 CAESALPINA ESPINOSA.-

2.1.1 Etimología

El nombre científico proviene de los vocablos:

Caesalpina en honor de Andrea Cisalpina, botánico y filósofo italiano. Y Spinosa del latín espinas.

Los Incas la conocían como taya, esto en el norte y en el sur con el nombre de tara, el mismo que proviene del aymara cuyo vocablo viene de la descripción de la semilla que significa achatada o aplastada refiriéndose a la forma de la semilla¹

2.1.2 Sinónimos

Caesalpina Tinctoria, Bentham ex Reiche, Poinciana Spinosa Molina, Caesalpina Pectinana Cavanilles, Coulteria Tinctoria HBK, Tara Spinosa (Molina), Brito y Rose, Caesalpina Estipulata.

Recibe otros nombres comunes como son: Tara, Taya, Divi divi de tierra fría, Guarango, Cuica serrano, Acacia Amarilla, Divi divi de los andes (Europa)²

¹Barriga, C. Cultivo y Aprovechamiento de la Tara, *Caesalpinia spinosa*, en la Región Andina. Informe Técnico. Lima. 2008.

²<http://tanino.tripod.com/~tanino>

2.1.3 Morfología

Este árbol puede alcanzar hasta 5 metros de alto, su tronco posee una corteza leñosa de color marrón claro o gris oscuro tiene ramas en formas retorcidas y con espinas pequeñas de aprox. 4 mm. De largo, con hojas que miden entre 8 y 12 cm de largo, con compuestas, alternas y están dispuestas en forma espiral, con 6 a 8 pares de folíolos opuestos. Las flores son de color amarillo rojizo dispuestas en racimos de 8 a 20 cm de largo. Sus frutos son de forma de vainas encorvadas que miden aprox. 10 cm de largo por 3 cm de ancho, y poseen un color naranja rojizo cuando están maduros. Contienen de 4 a 7 semillas ovoides, ligeramente aplanadas, de color pardo oscuro o negruzco cuando están maduras.³

2.1.4 Distribución Geográfica

El Perú es el mayor productor de tara en el mundo, con el 80% de la producción mundial. La producción básicamente de bosques naturales y en algunas zonas, de parcelas agroforestales. En este sentido el Perú es el país de los Andes que tiene mayor área con bosques de tara, seguido muy de lejos por Bolivia, Chile, Ecuador y Colombia.⁴

³<http://www.taraexport.com/?cont=2&idioma=es>

⁴<http://www.riie.com.pe/?a=29384>

2.1.5 Actividad Antimicrobiana

Los metabolitos encontrados en la Caesalpinia Espinosa fueron taninos, flavonoides, dichos compuesto son conocidos por ejercer acción antimicrobiana.

2.1.6 Uso Tradicional

2.1.6.1 Usos Medicinales: prescripción o dosis

La tara tiene diversos usos tradicionales, la infusión de las vainas maduras se utiliza para la amigdalitis en forma de gárgaras, la infusión de las hojas se utiliza para la estomatitis, la cocción de las ramas tiernas se usa como abortivo, igualmente se prepara una bebida que se toma como depurativo del colesterol, el cocimiento de las vainas se usan para secar las llagas de las piernas. En general es también muy utilizada para el tratamiento de infecciones vaginales y micóticas, para el lavado de ojos inflamados, para el dolor de estómago y diarreas, para el reumatismo y resfriado, para curar úlceras, como cicatrizante, entre otros. En alimentación, originan el característico sabor astringente a los vinos tintos (de cuyo bouquet son en parte responsables), al té, al café, debemos mencionar que la astringencia se explica al acomplejarse los taninos con macromoléculas y provocar la precipitación de las glicoproteínas ricas en prolina que contiene la saliva. En la cosmética se utiliza para la evitar la caída del cabello, para su tintura y

para la elaboración de champús y bronceadores; también se usa como biocida contra piojos y otros insectos.

A pesar del uso tan amplio no se encuentra literatura científica que avale estos usos tradicionales. Igualmente las recetas son solamente “recetas caseras”.

2.1.6.2 Contraindicaciones, Efectos Adversos y/o Reacciones Adversas:

No se encuentra literatura al respecto.

2.2 HIDROXIDO DE CALCIO

A partir de la combustión del carbonato cálcico se obtiene óxido de calcio y anhídrido carbónico. Cuando la primera sustancia se combina con agua se consigue hidróxido de calcio. Entre los antisépticos inespecíficos, el hidróxido de calcio tiene un alto poder bactericida y es tal vez la medicación más empleada en endodoncia. Fue introducido por Hermann en 1920 con la intención de favorecer los procesos de cicatrización, ya que sus principales efectos son su actividad antibacteriana y su capacidad para favorecer la formación de tejido calcificado⁵

El hidróxido de calcio representa un auxiliar valioso de la terapéutica endodóntica; se utiliza en diversas situaciones clínicas por su función antibacteriana, debido a su alto pH. Posee beneficios adicionales por su actividad cauterizante, y también su

⁵Canalda C. Medicación intraconducto. En: Canalda C, Brau E, editores. Endodoncia. Técnicas clínicas y Bases científicas. España. Editorial Masson, 2001; pag:184-93.

consistencia de pasta que restringe físicamente la formación de colonias bacterianas en el espacio del conducto. Se aplica en una suspensión viscosa o cremosa, en agua estéril o soluciones salinas junto con otros aditivos o sin ellos.

El Hidróxido de calcio es utilizado en numerosos escenarios clínicos en forma de pastas, barnices, resinas y selladores endodónticos. Cuando el $\text{Ca}(\text{OH})_2$ se disuelve en agua se disocia en iones HO^- y Ca^{2+} , la presencia del ion HO^- hace que la solución se torne alcalina. Este incremento del pH es lo que lo torna bactericida e inhibe la actividad osteoclástica.

De acuerdo con Tronstad⁶ el mecanismo de acción del hidróxido de calcio es un atributo directo de su capacidad de disociación en iones calcio e hidroxilos, resultando en un aumento del pH local produciendo un ambiente alcalino por la difusión a través de los túbulos de dentina. La eliminación de las bacterias mediante la utilización de hidróxido de calcio depende de la disponibilidad de iones hidroxilos en la solución.

El hidróxido de calcio ejerce un efecto antibacteriano efectivo mientras mantiene un elevado pH; es esperado entonces que este provea de un fuerte efecto antibacteriano cuando es utilizado en las aplicaciones intraconducto como medicación temporal.⁷

Muchas sustancias han sido empleadas como vehículo o agregadas al polvo de hidróxido de calcio, para mejorar sus propiedades antibacterianas, favorecer su

⁶Tronstad L. Endodoncia clínica, Barcelona, Graffing 1993.

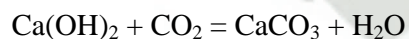
⁷Solak H, Oztan. The pH changes of four different calcium hydroxide mixtures used or for Intracanal medication. J of Oral Rehabilitation 2003; pag. 436-439.

disociación, aumentar su radiopacidad, regular su fluidez y/o consistencia, para su empleo clínico.

Los vehículos que se utilizan pueden clasificarse en acuosos, viscosos y oleosos. Estos proveen diferentes consistencias y velocidades de disociación del hidróxido de calcio, lo que determina una mayor o menor concentración de iones hidroxilos libres.⁸

Para algunos autores el pH del hidróxido de calcio puro es de 14y, para otros es de 15, y en virtud de este alto pH es considerado un óptimo bactericida. Esta propiedad fue demostrada en 1960 en animales que fueron sacrificados, en los cuales el hidróxido de calcio eliminaba las bacterias de los canales radiculares.

El hidróxido de calcio debe ser bien conservado y almacenado para evitar a su conversión en carbonato de calcio inactivo, que ocurre cuando en contacto con o gas carbónico atmosférico CO₂, que elimina su actividad bactericida. Después de cuatro meses expuesto su actividad es cuestionable.



El hidróxido de calcio en polietilenoglicol, mezclado en pequeñas cantidades de paramonoclorofenol alcanforado, aumenta la penetración en dentina y su período de acción debido a la formación de paraclorofenolato de calcio⁹.

Ha sido demostrado que especies de *Cándida sp.* y *Enterococcus faecalis* presentan resistencia al hidróxido de calcio, siendo la *Cándida* más resistente ya que ese

⁸Andrade Ferreira FB et al. Evaluation of ph Levels and calcium ion release in various calcium hydroxide endodontics dressings. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodon 2004 pág 388- 392.

⁹Berbert F L C. Leonardo M R. Silva L A B. Tanomaru Filho M, Bramante C M.: Influence of root canal dressings and sealers on repair of apical periodontitis after endodontic treatment; Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod., 2002; pág 184-89.

microorganismo crece en un amplio rango de pH, pudiendo no ser alcanzando por la alcalinidad del hidróxido de calcio¹⁰.

La colocación de hidróxido de calcio en el canal radicular influenciar las áreas de reabsorción, imposibilitando la actividad osteoclástica y estimulando el proceso de reparación. La presencia de iones calcio es necesaria para la actividad de sistemas complemento en la reacción inmunológica y la abundancia de iones calcio activa la ATPasa calcio dependiente, a la cual está asociada formación de tejido duro. El hidróxido de calcio requiere de 1 a 7 días para alcanzar la dentina radicular externa y se ha verificado que en el tercio cervical se manifiestan valores más altos de pH cuando comparado como el tercio apical.

El hidróxido de calcio también estimula la actividad de los fibroblastos y es capaz de inactivar las endotoxinas bacterianas y sus efectos, lo que no puede ser conseguido por la clorexidina o por el hipoclorito de sodio.

El hidróxido de calcio es actualmente considerado como la medicación intracanal de primera opción porque además de promover la reparación de los tejidos periapicales es barato y de fácil manejo. Sin embargo, su profundidad de penetración en los túbulos dentinarios es desconocida y varias especies bacterianas, incluyendo *Enterococcus faecalis* son resistentes a él¹¹. Algunos autores, encontraron que el

¹⁰ Siqueira Jr J F, Sen B I.: Fungi in endodontic infection; Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2004; pág. :632-41.

¹¹ Barbosa C A M, Gonçalves R B, Siqueira Jr J F, Uzeda M.: Evaluation of the antibacterial activities of calcium hydroxide, chlorhexidine, and camphorated paramonochlorophenol as intracanal medicament. A Clinical and Laboratory Study. J Endodont, May ,1997: pág. 297-300.

paramonoclorofenol alcanforado es más potente que el hidróxido de calcio en eliminar *E. faecalis*¹².

2.3 GLUCONATO DE CLORHEXIDINA

Esta sustancia al parecer tiene un gran potencial como medicamento para el interior del conducto. Su sustantividad, su espectro de actividad relativamente amplio y su baja toxicidad pueden hacerla muy adecuada para irrigación y aplicación de apósitos en endodoncia. Probablemente sería eficaz en concentraciones entre 0.2 y 2%.

El mecanismo antimicrobiano de la clorhexidina se relaciona con su estructura molecular de bisbiguanida catiónica. La molécula catiónica de la membrana celular interna cargada negativamente, causa filtración de componentes intracelulares y muerte celular. En bajas concentraciones es bacteriostática. En altas concentraciones causará la coagulación y precipitación del citoplasma y además es bactericida¹³

Ercan et al.¹⁴ compararon la actividad antibacterial de soluciones irrigantes del conducto radicular en dientes con necrosis y patologías periapicales. Después de cuantificar las unidades formadoras de colonias, concluyeron que tanto el gluconato de clorhexidina como el hipoclorito de sodio fueron significativamente efectivos para reducir los microorganismos en dientes con pulpa necrótica, patología periapical o ambos, y pueden ser usados exitosamente como una solución irrigante.

¹² Almyroudi A, Mackenzie D, McHugh S, Saunders W P, Edin F D S.: The effectiveness of various disinfectants used as endodontic intracanal medications: An In Vitro Study. J Endodont, March 2003; pág. 163-167.

¹³ Al-Kahtani A, Shostad S, Schifferle R, Bhambhani S. In-Vitro evaluation of microleakage of an orthograde apical plug of mineral trioxide aggregate in permanent teeth with simulated immature apices. J. Endod. 2005 Feb; pág 117-119.

¹⁴ Ercan E, Özekinci T, Atakui F, Gül K. Antibacterial activity of 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite in infected root canal: in vivo study. J of Endod 2004 Feb; pág :84-86.

También se ha demostrado su efectividad antibacterial cuando se compara con hipoclorito al 5.25%, EDTA 17%, hidróxido de calcio, peróxido de hidrógeno y solución salina. Tanto la clorhexidina al 2% como al 0.12% poseen actividad antimicrobiana residual por 72 horas cuando se usa como irrigante intraconducto. Esto lo demostraron Weber et al.¹⁵, en su estudio donde los grupos experimentales tratados con clorhexidina demostraron actividad antimicrobiana residual después de 168 horas de la instrumentación.

Como irrigante y medicamento intraconducto, la clorhexidina tiene una eficacia antibacterial comparable con la del hipoclorito de sodio y es efectiva contra cepas resistentes al hidróxido de calcio. Después de una exposición prolongada, al menos una semana, del conducto radicular a la clorhexidina puede resultar una actividad antimicrobiana residual¹⁶.

Estudios recientes sugieren su combinación con el hidróxido de calcio para mejorar la eficacia antimicrobiana contra microorganismos resistentes. La presencia de clorhexidina en gel y en diferentes concentraciones no altera el pH, ni la radiopacidad ni el tiempo de trabajo del hidróxido de calcio.¹⁷ En el estudio de Evans et al.¹⁸, la eficacia antimicrobiana de esta mezcla fue mayor que la del hidróxido de calcio solo.

Almyroudi et al.¹⁹, en el 2002, estudiaron la clorhexidina en 3 diferentes fórmulas: gel, gel más pasta de hidróxido de calcio en proporciones iguales y dispositivos de liberación lenta. Todas las alternativas fueron efectivas contra *Enterococcus faecalis*

¹⁵Weber C, McClanahan S, Millar G, Diener-West M, Jonson J. The effect of passive ultrasonic activation of 2% chlorhexidine or 5.25% sodium hypochlorite irrigant on residual antimicrobial activity in root canals. *J of Endod* 2003 Sept; pág. 562-4.

¹⁶Basrani B, Ghanem A, Tjäderhane L. Physical and Chemical properties of chlorhexidine and calcium hydroxide-containing medications. *J of Endod* 2004 Jun; 30(6):413-7

¹⁷Basrani B, Op. Cit pag 413-417

¹⁸Evans M, Craig J, Khemalelakul S, Xia T. Efficacy of calcium hydroxide: chlorhexidine paste as and intracanal medication in bovine dentin. *J Endod* 2003 May; pág :338-339.

¹⁹Almyroudi A, Op. Cit p 163-167.

en todos los períodos de tiempo y para todas las profundidades de dentina. La combinación de hidróxido de calcio y clorhexidina fue mejor que los dispositivos pero no fue significativa la diferencia.

Lin et al.²⁰ evaluaron el efecto antibacteriano de la clorhexidina como una medicación intraconducto y como solución irrigante en los túbulos dentinarios, básicamente empleando dispositivos de liberación lenta en puntas de gutapercha Active Point®(Roeko, Langenau, Germany). Las puntas de clorhexidina se colocaron por 7 días en el conducto, tiempo suficiente para su penetración en los túbulos. No se detectaron bacterias más allá de 500 micrones en los túbulos.

Estas puntas vienen estandarizadas y son radiopacas. Después de la preparación, se seleccionaron las puntas y se colocaron a la longitud de trabajo después de irrigar con solución salina. De esta manera se asegura su actividad antibacteriana a lo largo del conducto y previene la extrusión a los tejidos periapicales. Su remoción es fácil después de 7-14 días, y no quedan remanentes en las paredes. Con respecto a su uso se requieren más estudios²¹.

La Clorexidina en solución es un irrigante común en el tratamiento de la enfermedad periodontal, infecciones dermatológicas, heridas cutáneas, infecciones oftálmicas o de garganta y ha sido sugerida para usarla en endodoncia. El efecto antimicrobiano de la clorexidina es intermediado por diversos mecanismos. Esta sustancia se une electrostáticamente a sitios de cargas negativas de la bacteria, causando desequilibrio osmótico, daños a la bomba de sodio y potasio además de bloquear el transporte de calcio y magnesio. Atacando la membrana citoplasmática bacteriana; causa pérdida

²⁰Lin S, Zuckerman O, Weiss E, Mazor Y, Fuss Z. Antibacterial efficacy of a new chlorhexidine slow release device to disinfect dentinal tubules. J of Endod 2003 Jun; pág:416-418.

²¹Ibidem

del balance osmótico resultando en daño al material intracelular. Ella también se une a la hidroxiapatita y tejidos blandos, cambiando su campo eléctrico para competir con la ligación bacteriana.²² La actividad antibacteriana es positiva en pH fisiológico.

La clorexidina, es activa contra un largo espectro de aeróbios y anaeróbios, bacterias Gram positivas y Gram negativas así como especies de *Cándida* principalmente la *Cándida albicansy* virus²³. Ninguna acción selectiva de la clorexidina fue vista en la flora recolonizada, después de su aplicación.

Este antiséptico tiene substantividad y relativa ausencia de toxicidad, cuando la concentración es aumentada, ocurre la precipitación del contenido citoplasmático causando muerte celular. Innúmeros estudios han demostrado que la clorexidina tiene efectos tóxicos llegando una variedad de células eucariotas, siendo su superficie eletrostática el principal responsable²⁴. Otros autores afirman que el aumento de la permeabilidad celular causado por alta afinidad de la clorexidina por cargas negativas de radicales orgánicos no parece ser el único mecanismo de citotoxicidad, la síntesis de proteínas también es afectada en diferentes grados por el aumento de la concentración de la clorhexidina.

La substantividad de la clorexidina es dependiente de su concentración, dosis y pH. Concentraciones bactericidas fueron detectadas 8 horas después de un simple enjuague con 10 ml de 2,2 mmol/l en solución acuosa por un minuto.

Una propiedad muy discutida del gluconato de clorexidina es la capacidad de disolver sustancias orgánicas y tejido pulpar. Cuando es utilizada en forma de barniz es un

²²Lana M, Ribeiro-Sobrinho A, Stehling R, Garcia G, Hamdan J et al. Microorganisms isolated from root canals present necrotic pulp and their drug susceptibility in vitro. *Oral Microbiol Immunol* 2001, pág :100

²³ Siqueira J. Taxonomic changes of bacteria associated with endodontic infections. *J of Endod* 2003 Oct; pág:619

²⁴ Fouad A, Kim K, Clawson M, Barry J, Abenoja C, Zhu Q, et al. Molecular characterization of the presence of *Eubacterium* spp. and *Streptococcus* spp. In endodontic infections. *Oral Microbiol Immunol* 2003, pág:249

irritante pulpar, causando reacción inflamatoria reversible de resolución más lenta que cuando se utilizan los barnices tradicionales. El rango de degradación y consecuente liberación de la clorexidina puede ser controlada por períodos variando de horas a días.

La clorhexidina presentó efecto antimicrobiano de forma similar al hipoclorito de sodio cuando es usado como irrigación intracanal, en estudios *in vitro* utilizando dientes bovinos. En concentraciones específicas de 0,2% de Clorhexidina asociada al peróxido de hidrógeno fue verificado un efecto sinérgico. Otros autores demostraron que concentraciones de 0,5 y 1% fueron efectivas en la eliminación de *Enterococcus faecalis* mientras que soluciones a 0,12% no fueron eficientes y a 2% fue el agente antimicrobiano más efectivo para bacterias anaeróbicas que medicaciones intracanal comúnmente utilizadas en endodoncia como el paramonoclorofenol y el hidróxido de calcio.

El uso de Clorhexidina en gel como medicación intracanal puede ser particularmente beneficiosa en dientes con periodontitis apical persistente. La inhabilidad de remover totalmente el gel de CHX del canal radicular es probablemente el mayor obstáculo para su aplicación clínica, porque residuos del gel en las paredes del canal pueden perjudicar la adhesión de los cementos de obturación. Para solucionar este problema se sugiere la irrigación con hidróxido de calcio para propiciar la precipitación de la CHX y así dejar limpio el canal.

El efecto antibacteriano prolongado de la clorexidina, tetraciclina y sus derivados asume importante papel pos-obturación. La actividad residual después de la irrigación del canal es de 72h después de una irrigación. Para posibilitar aumento de

ese efecto, sobre las bacterias del canal los autores han sugerido el uso de CHX 5% en gel²⁵.

La larga permanencia de la CHX también fue relacionada a la recuperación del periápice, especialmente, hubo mejor respuesta en comparación al hipoclorito de sodio. Esto tal vez sea por causa de la adsorción de la CHX a los tejidos dentinarios y la posible desinfección de áreas del canal radicular que no son accesibles a la preparación biomecánica. El digluconato de clorexidina 2% en dientes humanos con necrosis y lesión periapical tiene actividad antimicrobiana 48h después de la preparación biomecánica. Comparación de soluciones irrigantes de hidróxido de calcio, hipoclorito de sodio 2,5%, clorexidina 2% y tricresol formalina mostraron que la CHX fue más efectiva contra *E. faecalis* que el hipoclorito de sodio. La clorexidina en solución a 1% eliminó de forma similar *Staphylococcus aureus*²⁶. En estudios utilizando dientes con periodontitis periapical, la clorexidina en solución asociada al metronidazol fue efectiva en 97% de los casos, a pesar de eso algunos casos presentaron reacción purulenta²⁷.

El uso del hipoclorito de sodio y clorhexidina combinados fue propuesta para irrigación del SCR, ya que podría tener acción antimicrobiana sinérgica. La capacidad de disolución del hipoclorito de sodio en tejidos sería mejor que la obtenida con CHX solamente, al mismo tiempo que sería menos tóxica. Esa asociación se basa en que la clorhexidina por ser una base es capaz de formar sales con algunos ácidos orgánicos y el hipoclorito de sodio por ser agente oxidante puede

²⁵Ingle J, Simon J, Walton R, Pashley D, Bakland L, Heithersay G, et al. Patología pulpar: etiología y prevención. En Ingle J, Bakland L, editores. Endodoncia. 5ta edición. México. Mc Graw Hill Interamericana, 2004: pág 175.

²⁶Behnen M, West L, Liewehr F, Buxton T, Mcpherson J. Antimicrobial activity of several calcium hydroxide preparations in root canal dentin. J Endod 2001 Dec; pág :765.

²⁷Almyroudi A, Op Cit p:163-167.

transforma parte del gluconato en ácido glucónico. Los grupos cloro se unirían al componente guanidina de la CHX formando cloreto de clorexidina.

Algunos autores afirmaron que la CHX afecta negativamente la proliferación celular, y directamente los fibroblastos causando su muerte²⁸. La clorexidina por cortos períodos de tiempo (1, 5, 15 min) indujo la reducción dosis dependiente de la proliferación celular. El uso de soluciones muy concentradas de clorexidina (0,5%) perjudicó la cicatrización y la progresión normal de la reparación en huesos de ratones. En la Tabla 1 está presentado un resumen de trabajos recientes utilizando la clorexidina para la desinfección de canales radiculares .

Tabla No 1.

Estudios de la acción de la Clorhexidina en la desinfección de canales radiculares

Autor	Tipo	Días	Concentración	Resultado	Indicación
Almyroudi et al., 2002	In vitro	14	1%	Eficiente	Med. Intracanal
Barbosa et al., 1997	In vivo/in vitro	7	0.12%	Eficiente	Med. Intracanal
Heling et al.1992	In vitro	7	0,2%	Eficiente	Med. Intracanal
Komorowski et al., 2000	In vitro	7	0,2%	Eficiente	Irrigante

²⁸Canalda C. Op Cit pag:184-193.

Kuruvilla & Kamath., 1998	In vitro	3	0,2%	Eficiente	Irrigante
Lenet et al., 2000	In vitro	1	2%	Eficiente	Med. Intracanal
Portenier et al., 2002	In vitro	1	0,02%	Ineficiente	Irrigante
Siqueira Jr & Uzeda., 1997	In vitro	7	0,12%	Eficiente	Med. Intracanal
Tanomaru et al., 2002	In vivo	15	2%	Eficiente	Irrigante
White et al., 1997	In vitro	3	2%	Eficiente	Irrigante
Yesilsoy et al., 1995	In vitro	15	0,12%	Eficiente	Irrigante

2.4 ENTEROCOCCUS FECAELIS

2.4.1 Característica General de los Enterococcus

Los enterococos son microorganismos que forman parte de la flora normal en la cavidad bucal y el tracto gastrointestinal y han sido reconocidos como potenciales patógenos humanos causando el 12% de las infecciones nosocomiales, entre éstas se incluyen las infecciones del tracto urinario, infecciones intra-abdominales y endocarditis infecciosa. Su naturaleza le

permite crecer y sobrevivir en medios ambientes áridos; de esta manera lo podemos encontrar en el suelo, la comida, el agua, las plantas y los animales como pájaros e insectos.²⁹

Hasta mediados de 1980, los enterococos no eran considerados como un género bacteriano separado, a pesar de sus características particulares que lo diferenciaban de los estreptococos. Características como su teñido, forma y disposición celular, así como la ausencia de catalasa, lo ubicaban dentro del Género Streptococcus. Con la clasificación serológica de Lancefield y el descubrimiento del antígeno del grupo D, los enterococos fueron clasificados como estreptococos del grupo D tolerante a la sal. Sin embargo, el antígeno del grupo D es un ácido lipoteicoico, uno de los componentes que se encuentra en casi todas las bacterias Gram positivas, y difiere del antígeno de los carbohidratos de la pared celular de los otros estreptococos.

Fue en 1984 cuando los enterococos obtuvieron un género formal luego de estudios de hibridación ADN-ADN o ADN-ARN demostrando mayores diferencias en comparación con los estreptococos; en ese momento se introdujeron dos nuevos Géneros: Enterococcus y Lactococcus.³⁰

Para que los enterococos puedan actuar como patógenos primero deben adherirse a los tejidos del hospedero; éstos pueden hacerlo a través de ligandos adhesivos específicos a la matriz extracelular de los mismos. Durante el proceso de invasión a los tejidos, los enterococos deben encontrarse en un medio ambiente con potenciales de óxido reducción elevados, nutrientes

²⁹ Yolken R. Editores. Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology 2002: 207-305

³⁰ Portenier I, Waltimo T, Haapasalo M. Enterococcus Fecalis and endash; the root canal survivor and “star” in post –treatment disease. Endod. Topics 2003;6 : 135-139

esenciales limitados, leucocitos fagocíticos y otras defensas del hospedero. Todos estos factores ayudan a que se expresen genes que favorecen el crecimiento del microorganismo.³¹

Los enterococos poseen habilidades únicas y potenciales de intercambiar material genético entre ellos mismos y con otros microorganismos. Existen al menos tres sistemas de conjugación a través de los cuales los enterococos pueden transferir naturalmente elementos genéticos. El primero, la presencia de plásmidos que poseen información genética para la receptividad de las feromonas únicamente descritos para los enterococos. Segundo, una variedad de plásmidos que fácilmente son transferidos a baja frecuencia entre enterococos, especies de *Streptococcus*, *Staphylococcus aureus*, especies de *Lactobacillus* entre otras; y tercero, el intercambio genético conjugativo que ocurre entre factores que se encuentran en la membrana de numerosas bacterias Gram negativas y Gram positivas.³²

Existen 23 especies pertenecientes al Genero *Enterococcus* y éstas a su vez se dividen en 5 grupos basados en su interacción con el manitol, el sorbitol y la arginina. *Enterococcus faecalis* pertenece al mismo grupo del *Enterococcus faecium*, *Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus mundtii* y *Enterococcus gallinarum*. *E. faecalis* responde negativamente a la arabinosa y excepto por algunas variantes atípicas, es el único miembro del grupo que utiliza el piruvato y tolera el telurito.³³

³¹ Jett B, Huycke M. Gilmore M. Virulence of Enterococci. *Clin Microbiol Rev.* 1994;7 :462-478

³² Ibidem

³³ Stuart C. Schwartz S. Beeson T, Owatz C. *Enterococcus Faecalis*: Its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J Endod.* 2006;32 : 93-98

Por su parte, *E. faecalis* ha sido el microorganismo patógeno más asociado a las infecciones endodónticas persistentes, siendo aislado frecuentemente de la flora microbiana mixta o de monocultivos. Probablemente este microorganismo es el que mejor se adapta y tolera las condiciones ecológicas existentes en los conductos radiculares obturados, gracias a ciertas características microbiológicas como sus factores de virulencia y su capacidad de formar biopelículas. Por ello, es importante profundizar en dichas características microbiológicas y entender cuál es el papel que desempeña cada una de ellas en el desarrollo, crecimiento y supervivencia del mismo dentro del sistema de conductos radiculares (SCR).

2.4.2 Características microbiológicas del *Enterococcus Faecalis*

E. faecalis es un coco Gram positivo que puede aparecer solo, en pares o en cadenas; éstas células pueden aparecer como coco-bacilos cuando se realiza la tinción de Gram en muestras provenientes de placas de Agar o pueden aparecer ovals o en cadenas cuando se realiza la tinción de Gram en muestras provenientes de caldo de tioglicolato. Éste es un microorganismo anaerobio facultativo y su crecimiento óptimo ocurre a 35°C; sin embargo, también se ha observado crecimiento entre 10 y 45°C. Todas las cepas pueden crecer en caldos que contengan cloruro de sodio al 6,5% y esculina hidrolizada en presencia de sales biliares al 40% (medio de bilis-esculina). Casi todas las cepas de este microorganismo son homofermentativas, no producen gas, no

contienen enzimas citocrómicas y el ácido láctico resulta el producto final de la fermentación de la glucosa.³⁴

Por su parte, *E. faecalis* posee una pared celular con antígenos del grupo D, el cual es un ácido lipoteicoico glicerol intracelular asociado con la membrana citoplasmática. La pared celular está constituida por una gran cantidad de peptidoglicanos y ácido teicoico.

Una característica importante de *E. faecalis* es su habilidad de crecer en medios con pH ácido y alcalino, donde este último normalmente inhibe el crecimiento y supervivencia de muchos otros microorganismos. Con relación a esto, McHugh et al., evaluaron el pH necesario para inhibir su crecimiento y el experimento in vitro demostró que se necesita un pH mayor de 11,0 para la erradicación de este microorganismo.

Estos autores refieren que el hidróxido de calcio como medicación intraconducto puede alcanzar un pH crítico dentro del SCR. Sin embargo, la ubicación de este microorganismo dentro de los túbulos dentinarios es incierta. Aparentemente, el pH crítico mayor de 11,0, también conocido como umbral de erradicación no se logra en la dentina luego de la aplicación del hidróxido de calcio. Esto hace suponer que *E. faecalis* puede persistir en los túbulos dentinarios y quizás volver a infectar el conducto radicular.³⁵

Nakajo et al³⁶, en este mismo sentido, evaluaron las propiedades bioquímicas de *E. faecalis* que le confieren la resistencia ácido-alcalina, comparándola con

³⁴Portenier I, Waltimo T. Haapasalo M. Op. Cit 135-139

³⁵Mc Hugh C, Zhang P, Michalek S, Eleazer P. Op. Cit p 218-219

³⁶Nakajo K, et. al .Resistance to acidic and alkaline environments in the endodontic pathogen *Enterococcus faecalis*. Oral Microbiol Immunol. 2006; 21: 283-8.

la de *Streptococcus mutans*. *E. faecalis* mostró una ácido-resistencia similar a *S. mutans* y una mayor alcalino-resistencia. Estos autores sugieren que la resistencia al pH de *E. faecalis* se puede atribuir a la resistencia de la membrana citoplasmática frente a medios ácidos o alcalinos junto con el sistema de transporte de protones vinculado al ATP.

Junto con la propiedad de sobrevivir a medios ambientes con pH ácidos o alcalinos, *E. faecalis* ha demostrado también ser capaz de formar comunidades microbianas adheridas a superficies o "biopelículas"

Las biopelículas pueden ser definidas como comunidades de microorganismos adheridas a una superficie y embebidas en una matriz de polisacáridos y proteínas formando una capa viscosa. La matriz representa generalmente el 85% del volumen de la biopelícula.³⁷

En relación a esto, se han realizado numerosas investigaciones donde se afirma la capacidad de *E. faecalis* de formar biopelículas y así poder sobrevivir a ciertas medicaciones intraconducto y a diversos protocolos de irrigación. Uno de ellos es el trabajo realizado por George et al.³⁸, quienes evaluaron la influencia de distintas condiciones ambientales y nutricionales en las características de las biopelículas formadas por *E. faecalis* en el SCR y su penetración dentro de los túbulos dentinarios. Las condiciones ambientales estudiadas fueron medios ambientes aerobios y anaerobios ricos y pobres en nutrientes.

³⁷ Portenier I, Waltimo T, Haapasalo M. Op. Cit 135-139

³⁸ George S, Kishen A, Song K. The Role of Environmental Changes on Monospecies Biofilm Formation on Root Canal Wall by *Enterococcus faecalis*. J Endod. 2005; 31: 867-72.

Con relación a la capacidad antibacteriana de ciertos antibióticos sobre biopelículas formadas por *E. faecalis*, Lima et al.³⁹ evaluaron la efectividad de medicamentos basados en antibióticos y en clorhexidina, en la eliminación de estas biopelículas. Las mismas fueron inducidas en filtros de membranas de nitrato celuloso con 1 día o 3 días de formación y quedaron embebidas por los medicamentos durante un día a 37°C.

Los medicamentos utilizados en este estudio se probaron en forma de gel y fueron los siguientes: (1) gluconato de clorhexidina al 2% con natrozole al 2% en agua destilada, (2) gluconato de clorhexidina al 2%, sulfato sódico dietilenglicol al 1,25% y natrozole al 2% en agua destilada, (3) clindamicina al 2% con natrozole al 2% en agua destilada, (4) clindamicina al 2%, sulfato sódico dietilenglicol al 1,25% y natrozole al 2% en agua destilada, (5) gluconato de clorhexidina al 2%, óxido de zinc al 15%, sulfato sódico dietilenglicol al 1,25% y natrozole al 2% en agua destilada y (6) clindamicina al 2%, metronidazol al 10%, sulfato sódico dietilenglicol al 1,25% y natrozole al 2% en agua destilada.

En sus resultados pudieron observar que la asociación entre la clindamicina y el metronidazol redujo significativamente el número de células en la biopelícula formada en un día y, con relación a todos los medicamentos probados, aquellos que contenían clorhexidina al 2% fueron los únicos capaces de reducir en gran cantidad el número de células bacterianas de *E. faecalis* en ambas biopelículas.

³⁹Lima K, Fava L, Siqueira J. Susceptibilities of *Enterococcus faecalis* biofilms to some antimicrobial medications. *J Endod.* 2001; 27: 616-9.

Estos autores señalan que la clorhexidina es una molécula catiónica que ejerce su efecto antibacterial interrumpiendo la integridad de la membrana citoplasmática bacteriana, causando filtración de los contenidos intracelulares. En altas concentraciones, la precipitación del citoplasma bacteriano ocurre como resultado de la interacción entre la clorhexidina y las entidades fosfatadas, como adenosín trifosfato y los ácidos nucleicos. De allí que los medicamentos que contienen clorhexidina sean capaces de eliminar casi la totalidad de microorganismos presentes en las biopelículas.⁴⁰

Existen tres hipótesis que pueden explicar la resistencia de estas biopelículas a los antibióticos. La primera hipótesis se refiere a la reducción o baja penetración del medicamento a través de la misma; la segunda se basa en los posibles cambios en el medio ambiente químico de la biopelícula y la tercera todavía está en discusión, pero sugiere que las sub-poblaciones de bacterias dentro de la biopelícula adquieren capacidad fenotípica diferente.

2.4.3. Incidencia de *Enterococcus Faecalis* en las infecciones endodónticas

Una gran cantidad de estudios e investigaciones indican que las enfermedades perirradiculares son desórdenes de tipo infeccioso. La lista de microorganismos involucrados en las enfermedades perirradiculares aumenta día a día, y tiene el potencial de aumentar más en los próximos años gracias a los avances de los métodos moleculares en cuanto a identificación y detección de microorganismos.

⁴⁰Lima K, Fava L, Siqueira J. Op Cit p 616-619

Sundqvist y Figdor ⁴¹ señalan que un microorganismo patógeno endodóntico está definido como aquel capaz de inducir destrucción de tejidos en la periodontitis apical. Los dientes con periodontitis apical se caracterizan por presentar una infección polimicrobiana y, mientras algunos microorganismos específicos desempeñan diferentes funciones o dominan los distintos estadios de la infección, no existe evidencia de que existan otros que no se encuentren involucrados en la patogénesis de la periodontitis apical.

En esencia, una infección endodóntica no es más que la infección del SCR del diente, siendo ésta el agente etiológico primario de las diferentes formas de enfermedades inflamatorias perirradiculares. Luego que se ha establecido la infección endodóntica, estos microorganismos entran en contacto directo con los tejidos perirradiculares a través del foramen apical o foraminas accesorias, ocasionando daño a estos tejidos y a la vez suscitando cambios inflamatorios.

Distintos autores en sus investigaciones señalan la presencia de *E. faecalis* en las infecciones endodónticas, bien sean infecciones primarias o infecciones persistentes; por ello, se revisarán a continuación aquellos estudios que soportan la prevalencia del mismo en ambos tipos de infección.

⁴¹Sundqvist G, Figdor D. Life as an endodontic pathogen. Ecological differences between the untreated and root-filled root canals. *Endod Topics*. 2003; 6: 3-28.

3.- ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.-

Título: *Evaluación de la Actividad Antibacteriana in vitro de los Extractos de Caesalpinia spinosa “tara” y Eucalyptus sp. “eucalipto”, 2002*

Autores : Liu H., Lengua, L., León, G., La Torre, C., Huapaya, J., Chauca, J.

Fuente: Revista Horizonte Médico

Resumen:

Se hicieron estudios de actividad antibacteriana in vitro de los extractos de las vainas y semillas de *C. spinosa* utilizando cepas Gram positivas (*Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*) y Gram negativas (*Escherichia coli*, *Klebselia sp.* y *Shigella flexneri*) mediante técnica de difusión en disco. Los extractos fueron preparados usando como solvente alcohol-acetona (1:1). Se observó actividad inhibitoria sobre cepas Gram positivas para el extracto de la vaina de tara más no para el de la semilla. No se determinó la concentración mínima inhibitoria

Análisis de Enfoque:

Este estudio nos da referencia que debemos tomar el extracto de la vaina de la tara por que tiene actividad antimicrobiana en gram positivos, siendo el *Enterococcus fecalis* clasificado como un coco gran positivo

Título: *Antibacterial Screening of Some Peruvian Medicinal Plants Used in Callería District. 2005*

Autores: Kloucek, P., Polezny, Z., Svobodova, B., Vlkova, E., Kokoska, L.

Fuente: Journal of Ethnopharmacology

Resumen:

En otro estudio se hizo el ensayo antimicrobiano sobre extractos etanólicos al 80% de nueve plantas obtenidos por maceración durante 5 días, una de las muestras ensayadas fue la *C. spinosa* (vainas); se utilizaron cinco cepas Gram positivas y tres Gram negativas usando el método de microdilución del caldo de cultivo (broth microdilution). Los resultados son poco relevantes para la muestra mencionada a excepción del ensayo contra *Enterococcus faecalis* en el que se observó una CIM de 0,5 mg/ml, mientras que para *Bacillus cereus* fue de 8, y de 16 para *Bacillus subtilis* *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Bacteroides fragilis*

Análisis de enfoque:

Este estudio confirma los resultados de la anterior investigación en la cual se observa la actividad antimicrobiana de la caesalpina espinosa tanto en gram positivos como en gram negativos, esto quiere decir que también produce buena acción antimicrobiana contra las cepas de enterococcus fecalis, debido a que la CIM para este microorganismo fue el más bajo.

Título: *Tratamiento de la Gingivitis Marginal Crónica con Pasta Dental de Caesalpinia spinosa “tara” en Niños de 8 a 10 Años. USMP. Lima, 2004.*

Autor: Infantes A, Yanet

Fuente: Biblioteca Central de la Universidad San Martín de Porres

Resumen:

Otra experimento se orientó a determinar el efecto antiinflamatorio de una pasta dental conteniendo tara en el tratamiento de la gingivitis marginal crónica, al término del cual

todos los 64 niños al cual se le aplicó esta pasta dental desaparece el sangrado gingival al noveno día, el enrojecimiento y el edema gingival desaparece al doceavo día y la presencia de puntillado al día 15, contra lo que ocurre al aplicarse una pasta dental placebo.

Análisis de enfoque:

Este estudio nos da referencia que la caesalpina espinosa posee también efectos antiinflamatorios que podrían ser beneficiosos en el tratamiento de conductos

Título: *Evaluación in Vitro de la actividad antimicrobiana del Hidroxido de Calcio en dos preparaciones en presencia de enterococo faecalis*

Autores : Leonor Martínez S., Hilda Patricia Acosta L., Martha Lucely Duarte

Fuente: Revista Horizonte Médico

Resumen:

Se evaluó el efecto del hidróxido de calcio puro, del hidróxido de calcio con gluconato de clorhexidina al 13% y del hidróxido de calcio con propilenglicol sobre el crecimiento del Enterococo faecalis mediante un estudio experimental *in vitro*.

Posteriormente, se sembraron en un medio de Agar Mueller Hinton, en los siguientes tiempos: 1, 20, 60, 80 y 120 minutos de contacto directo con la cepa de E. faecalis. Se llevaron a incubación a 37° Centígrados para ser observadas las Unidades Formadoras de Colonias (UFC), a las 24, 48 y 72 horas.

Análisis de Enfoque:

Este estudio nos da referencia que el Hidróxido de Calcio tiene efecto antimicrobiano sobre el E. Faecalis, además de darnos una pauta de periodos de evaluación para medicación intraconductos usualmente usados.

Título: *An in vitro study of antibacterial effect of calcium hydroxide and chlorhexidine on Enterococcus faecalis*

Autores : Jhamb S, NIKhil V, Singh V

Fuente: Indian J Dent Res. 2010 Oct-Dec

Resumen:

El estudio comprueba la actividad antibacteriana de diversos medicamentos intrarradicular. Prueba de difusión de agar se utilizó para evaluar los efectos antibacterianos de los siguientes agentes antibacterianos: i. hexidine:0.2% clorhexidina gluconato; Gluconato de clorhexidina II. periogard:0.12%; III. hidróxido de calcio polvo más agua estéril; IV. metapaste más agua estéril; v. hidróxido de calcio más hexidine; VI. hidróxido de calcio plus periogard; VII. metapaste plus hexidine; VIII. metapaste plus periogard. Se midió el tamaño de las zonas de inhibición.

El tamaño promedio de las zonas de inhibición después de 72 horas fueron hexidine: 5 mm; periogard: 4,25 mm; hidróxido de calcio más agua estéril: 0,5 mm; metapaste más agua estéril: 0,5 mm; hidróxido de calcio plus hexidine: 4,7 mm; hidróxido de calcio plus periogard: 4 mm; metapaste plus hexidine: 4,65 mm; metapaste plus periogard: 4 mm.

Análisis de Enfoque:

El estudio nos da referencia sobre el poder antibacteriano sobre en enterococcus faecalis que puede tener tanto la clorhexidina y el hidróxido de calcio, ya sea por separado o junto. Siendo por tanto sustancias adecuadas para hacer la comparación de nuestra sustancia natural.

Título: *Efecto antibacteriano de Caesalpinia spinosa (Tara) sobre flora salival mixta*2012

Autor. Mariella Huarino Acho, Donald Ramos Perfecto

Se determinó el efecto antibacteriano in vitro de diferentes concentraciones del extracto alcohólico de la Caesalpinia spinosa “tara”(6,25, 12,5, 25, 50 y 60 mg/mL); y compararlas con Clorhexidina 0.12 % y Alcohol 70°. se usó la flora mixta salival, Se determinó que el efecto antibacteriano muestra una mayor actividad directamente proporcional a su concentración. Por otro lado, el análisis de EACS mediante el tamizaje fitoquímico demostró alta presencia de taninos, flavonoides y otro compuestos.

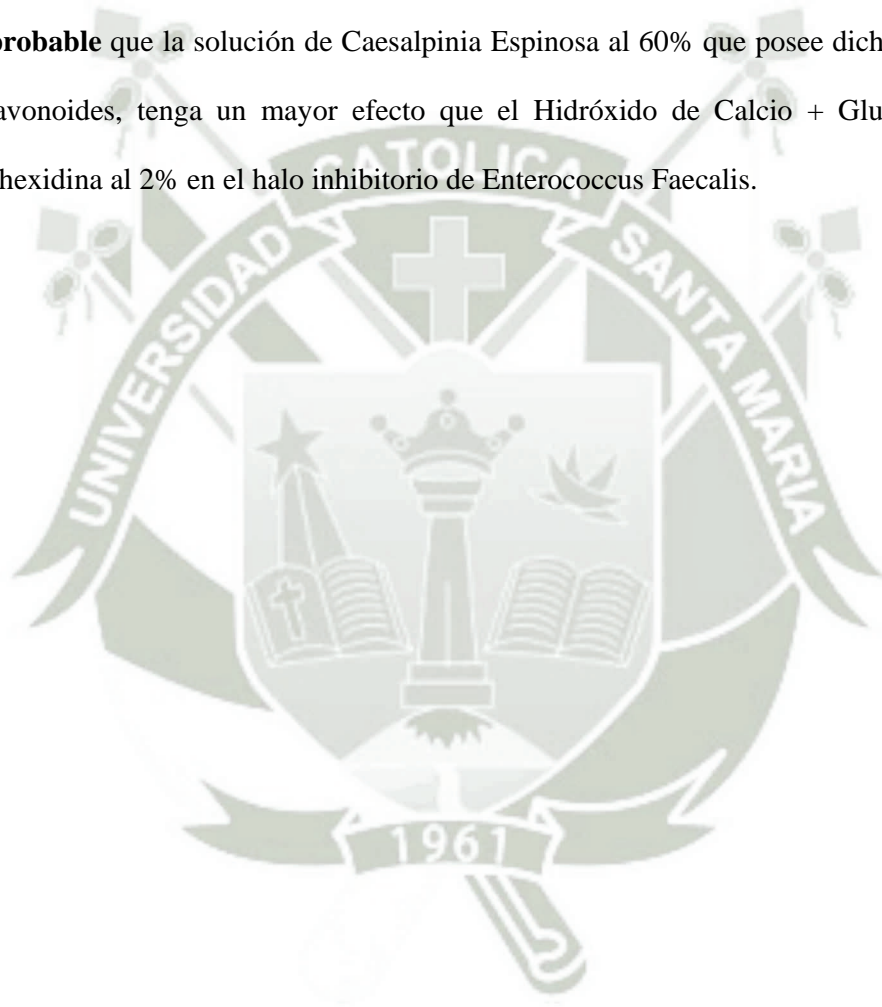
4.- OBJETIVOS

1. Evaluar el efecto de la Caesalpinia Espinosa al 60% en el halo inhibitorio microbiano de Enterococcus Faecalis
2. Evaluar el efecto del Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% en el halo inhibitorio microbiano de Enterococcus Faecalis
3. Determinar si el efecto de la Caesalpinia Espinosa al 60% en el halo inhibitorio del Enterococcus Faecalis será mayor que el efecto del Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% en el halo inhibitorio de Enterococcus Faecalis.

5.-HIPÓTESIS

Dado que la Caesalpinia Espinosa es una leguminosa de porte arbustivo de la familia de las Fabaceae en cuya composición fitoquímica se encuentra los taninos y flavonoides los cuales tienen la capacidad de penetrar la membrana celular bacteriana con facilidad y precipitar proteínas protoplasmáticas:

Es probable que la solución de Caesalpinia Espinosa al 60% que posee dichos taninos y flavonoides, tenga un mayor efecto que el Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% en el halo inhibitorio de Enterococcus Faecalis.



II PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN

1.1 Técnica.-

Se utilizará la técnica de observación microbiológica experimental para recoger información de la variable respuesta conforme al siguiente esquema

VARIABLE EN ESTUDIO	EN	TECNICA	INSTRUMENTO
Halo inhibitorio		Observación Microbiológica	Ficha de observación

Descripción de la Técnica

a. Obtención del extracto de *Caesalpinia Espinosa*

Las vainas secas serán recolectadas y se procederá a separar las semillas de las vainas, posteriormente se molerá las vainas obteniéndose un polvo fino, el cual se mezclará con alcohol de 96 grados en recipientes color caramelo, por 14 días, durante los cuales se procedió a agitar por un lapso de 30 segundos diarios para homogenizar la solución.

Se procederá a filtrar la solución con papel filtro de paso lento para luego colocar la solución obtenida en baño maría para vaporizar el alcohol. Posteriormente se colocará la sustancia obtenida en un recipiente adecuado para su conservación.

b. Reactivación de la cepa bacteriana

El medio infusión Cerebro Corazón (BHI) se utilizará para la reactivación de los *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

La cepa será reactivada incubándola en medio infusión Cerebro Corazón (BHI) por 24 horas a 37°C, después de este procedimiento, la concentración celular será medida por medio de espectrofotometría según la escala de 0,5 de Mc Farland

c. Preparación de los medios de cultivo

El medio de cultivo Agar Cerebro Corazón (BHA) se preparará según las instrucciones del fabricante, se esterilizará y se pondrá en baño maría hasta su uso, se procederá a verter la concentración bacteriana de Cepa de *Enterococcus Faecalis* en el Agar Cerebro Corazón, para luego repartir el medio en las 20 placas petri previamente esterilizadas a razón de un espesor de 4 mm. por placa dentro de la cámara de seguridad biológica, siguiendo los parámetros de bioseguridad. Se dejará solidificar a temperatura de medio ambiente por 15 minutos, se rotulará las placas en la parte posterior con el nombre de la sustancia a investigar.

d. Inoculación de Principio Activo

Una vez que el agar solidifique se procederá a colocar sensidiscos de 5 mm en tres puntos separados en la placa petri, con 30 microlitros con la sustancia de *Caesalpinia Espinosa* al 60% y el suero fisiológico y se realizará pozos de 5 mm en tres puntos separados para colocar la pasta de Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2%, y la pasta de Amoxicilina+ Acido Clavulánico. A razón de 24 muestras para Grupo Experimental 1: *Caesalpinia Espinosa* al 60% y 24 muestras para el Grupo Experimental 2: Hidroxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2%. 9 muestras para el Grupo Control Positivo: Amoxicilina + Ac. Clavulánico y 3 muestras para el Grupo Control Negativo: Suero Fisiológico. Posteriormente se rotulará las placas y las almacenará en la cámara de anaerobiosis a 37 °C por 24 horas para proceder a tomar medidas.

Diseño

Diseño Factorial de Grupos

Diagramación Operativa

GRUPO	MUESTRA	PRETEST	ESTIMULO	POSTEST			
				24Hrs	48Hrs	72Hrs	7 Días
GE1	1-24	-----	X1	O1	O2	O3	O4
GE2	1-24	-----	X2	O1	O2	O3	O4
GC	1-9	-----	X3	O1	O2	O3	O4

1.2 Instrumentos.-

a. Instrumento documental:

Se utilizará un instrumento, una ficha de observación experimental del halo inhibitorio a las 24, 48, 72 horas y 7 días

Estructura del Instrumento

VARIABLE	INDICADORES	SUB	ITEM
		INDICADORES	
Halo	Diámetro del halo	24hrs	(1.1)
Inhibitorio	Inhibitorio	48hrs	(1.2)
Microbiano	Caesalpinia	72hrs	(1.3)
de	Espinosa al 60%	7 días	(1.4)
Enterococcus Faecalis			
	Diámetro del halo	24hrs	(2.1)
	Inhibitorio	48hrs	(2.2)
	Hidróxido de	72hrs	(2.3)
	Calcio + Gluconato	7 días	(2.4)
	de Clorhexidina al 2%		

b. Instrumentos mecánicos:

Se utilizará:

Micropipeta

Autoclave

Mechero Bunsent

Cocina Eléctrica

Matrazes de 250 ml (4)

Placas Petri

Esterilizadora de Aire Seco

Estufa para baño María

Probeta de 100 ml

Balanza electrónica (mg)

Tubos de ensayo de 13x100 con tapa de borosilicato

Trípode

Malla de asbesto

Gradilla

Cámara de anaerobiosis

Frigider

Fiola de 10cc
Perforador
Cámara Digital

c. Materiales:

Agar Cerebro Corazón (BHA)
Infusión Cerebro Corazón (BHI)
Guantes
Barbijos
Tara en polvo
Alcohol 96%
Gasa
Papel craft
Jeringas de 10cc
Hidróxido de Calcio P.A
Gluconato de Clorhexidina al 2%
Campos descartables estériles
Papel filtro de paso lento
Bolsas de desechos biológicos
Paños absorbentes
Cinta Masking Tape
Hilo grueso

2. CAMPO DE VERIFICACIÓN

2.1 Ubicación espacial.-

El estudio se realizará en los laboratorios de Microbiología de la UCSM

2.2 Ubicación temporal.-

Cronología: 2012

Visión Temporal: Actual

Corte Temporal: Longitudinal

2.3 Unidades de Estudio.-

Se tomará la opción Grupos

Porque se trata de una investigación experimental que tiene la intención de contrastar diferencia en las unidades de estudio.

a) Identificación de los grupos

Todos los grupos se encontrarán en cada placa petri debidamente separados, es decir el grupo experimental 1 (GE1) correspondiente a la Caesalpina Espinosa al 60%, grupo experimental 2 (GE2) correspondiente a Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2%

b) Criterios para igualar grupos

b.1 Igualación cualitativa

- Criterios Incluyentes
Cepa de Enterococcus Faecalis
- Criterios Excluyentes
Cepa contaminada de Enterococcus Faecalis

b.2 Asignación de Unidades de Estudio

Se realizará una siembra en cada placa Petri

Se aplicará el muestreo PROBABILISTICO, PARA ENSAYOS

CLÍNICOS, al 95% de confianza.

PRUEBA DE HIPOTESIS

Hipótesis Nula: Es probable que la solución de Caesalpinia Espinosa al 60% no posea efecto antimicrobiano mayor que el Hidróxido de Calcio y Gluconato de Clorhexidina al 2%

Hipótesis Alternativa: Es probable que la solución de Caesalpinia Espinosa al 60% posea efecto antimicrobiano mayor que el Hidróxido de Calcio y Gluconato de Clorhexidina al 2%

Se determinó, el tamaño mínimo muestral para un ensayo clínico, mediante la siguiente fórmula, para la estimación de tamaño muestral, para la evaluación de diferencia de medias, en estudios experimentales:

$$n = 2 \left[\frac{(Z\alpha - Z\beta)\delta}{\mu_1 - \mu_2} \right]^2$$

DONDE:

$Z\alpha = 1.96$ constante de confiabilidad. 95% confiabilidad.

$Z\beta = -0.84$ constante para la potencia del estudio. 80% potencia.

$\delta = 1.75$ desviación estandar del grupo control (antecedentes)

$\mu_1 = 10$ mm halo grupo control .

$\mu_2 = 12$ mm halo grupo experimental.

Reemplazando

$n = 23.81$

$n = 24$

24 muestras para Grupo Experimental 1 (Caesalpinia Espinosa)

24 muestras para Grupo Experimental 2 (Hidróxido de Calcio +

Gluconato de Clorhexidina al 2%)

3. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN

3.1 Organización.-

Antes de realizar la toma de datos necesitamos:

- Autorización del Coordinador de los laboratorios de análisis clínico
- Obtener la cepa Enterococcus Faecalis por medio del laboratorio Genlab
- Coordinar con el docente de microbiología
- Prueba Piloto

Informe de resultados de la prueba piloto

Prueba piloto en 3 unidades por grupo .Al aplicar la prueba se comprobó que el instrumento si es eficaz para la toma de nuestros datos según nuestra variable. Se determinó que el promedio de aplicación del instrumento es de 3 minutos, por lo tanto la prueba piloto demostró ser de fácil aplicación y efectiva para nuestra recolección de datos.

Se concluyó preliminarmente que la Caesalpinia Espinosa al 60% tuvo un mayor halo de inhibición que el Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2%

3.2 Recursos.-

3.2.1. Recursos Humanos.-

Investigador: CD. Vanessa Bornaz Arenas

Asesor: Dr. Hair Salas

Colaborador: Dr. Gustavo Obando Perea

3.2.2. Recursos físicos.-

La recolección de la información se llevará a cabo en el ambiente e infraestructura de los laboratorios de Microbiología de la UCSM

3.2.3. Recursos financieros.-

Autofinanciado por la investigadora

4 CRITERIO PARA EL MANEJO DE RESULTADOS

4.1 A Nivel de Sistematización.-

Tipo de sistematización: Informatizado con paquete estadístico STATTA y programa de hoja de cálculo EXCEL

Clasificación: Matriz de Sistematización de registro y control

Codificación: Numérica (etiquetas)

Recuento: Matrices de Conteo

Tabulación: Cuadros Numéricos de triple entrada

Graficación: Barras Dobles

4.2 Plan de análisis de datos.-

a. Tipo de análisis

Por su naturaleza es cuantitativo, cuyo tratamiento estadístico se presenta a continuación:

T STUDENT

Será necesario determinar si las diferencias entre las respuestas de los sectores experimentales son significativos o no, y en este sentido podrá determinarse si la Caesalpina Espinosa al 60% y el Hidróxido de Calcio + Gluconato de Clorhexidina al 2% influye o no en el halo inhibitorio de Enterococcus Faecalis

Variable Investigativa	Indicadores	Carácter Específico	Escala de Medición	Técnica de Estadística Descriptiva	Técnica de Estadística Inferencial
Halo Inhibitorio Microbiano de Enterococcus Faecalis	Diámetro del Halo Inhibitorio	Cuantitativo	De razón	Distribución de Frecuencia Tendencia Central Medidas de Dispersión	T STUDENT

4.3 A nivel de conclusiones.-

Se plantearán conclusiones respondiendo a las interrogantes básicas, mediante la ejecución de los objetivos.

4.4 A nivel de Recomendaciones.-

De acuerdo a los resultados, se realizarán recomendaciones, a Ministerios de Salud, a las Facultades de Odontología para el uso de esta sustancia natural.

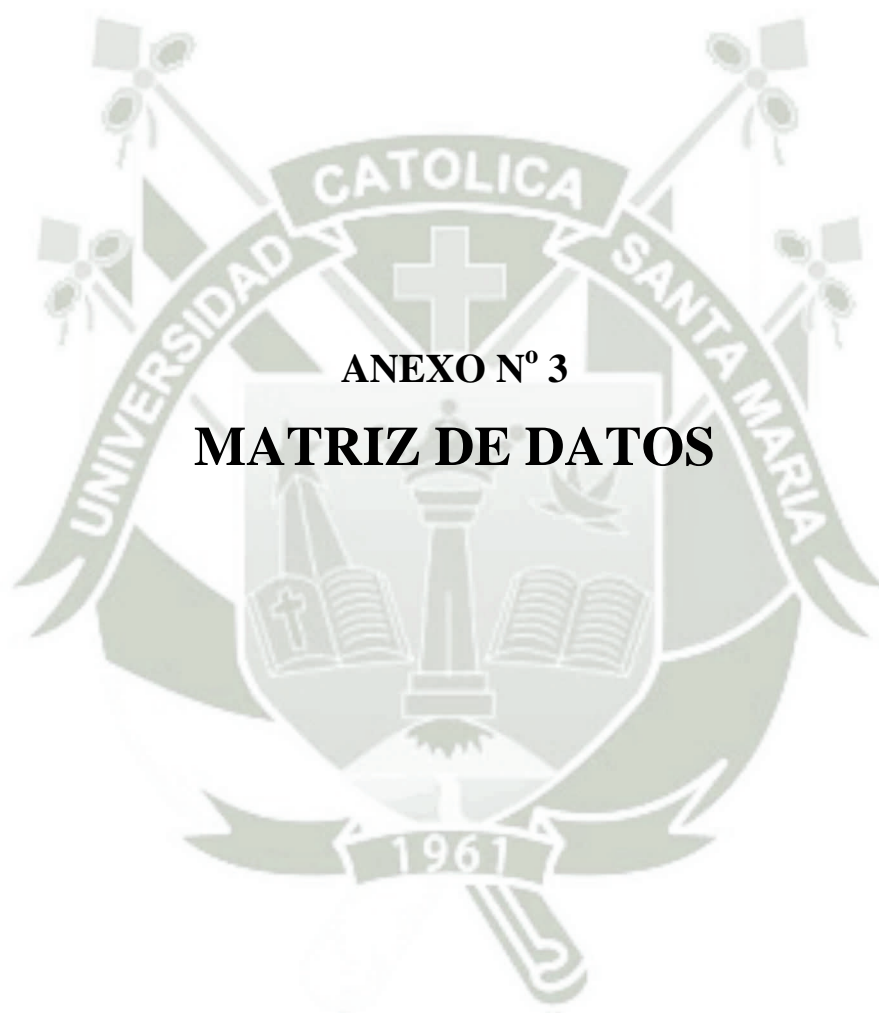


ANEXO N° 2

MODELO DE INSTRUMENTO

INSTRUMENTO: FICHA DE OBSERVACION DE HALO INHIBITORIO

GRUPO	Nro	PRETEST	POSTEST			
			HALO INHIBITORIO (mm)			
			24Hrs	48Hrs	72Hrs	7 Días
CEPA ENTEROCOCCUS FAECALIS CON CAESALPINIA ESPINOSA AL 60%	1	-----				
	2	-----				
	3	-----				
	4	-----				
	5	-----				
	6	-----				
	7	-----				
	8	-----				
	9	-----				
	10	-----				
	11	-----				
	12	-----				
	13	-----				
	14	-----				
	15	-----				
	16	-----				
	17	-----				
	18	-----				
	19	-----				
	20	-----				
	21	-----				
	22	-----				
	23	-----				
	24	-----				
CEPA ENTEROCOCCUS FAECALIS CON HIDROXIDO DE CALCIO + GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2 %	1	-----				
	2	-----				
	3	-----				
	4	-----				
	5	-----				
	6	-----				
	7	-----				
	8	-----				
	9	-----				
	10	-----				
	11	-----				
	12	-----				
	13	-----				
	14	-----				
	15	-----				
	16	-----				
	17	-----				
	18	-----				
	19	-----				
	20	-----				
	21	-----				
	22	-----				
	23	-----				
	24	-----				



ANEXO N° 3

MATRIZ DE DATOS

GRUPO	Nro	PRETEST	POSTEST						PRETEST	POSTEST					
			HALO INHIBITORIO (mm)							HALO INHIBITORIO (mm)					
			24Hrs	48Hrs	72Hrs	7 Dias	24Hrs	48Hrs		72Hrs	7 Dias				
CEPA ENTEROCOCCUS FAECALIS CON CAESALPINA ESPINOSA AL 60%	1	---	8.75	9.00	9.25.00	9.50	8.75	9.00	9.25	9.50	---	9.50	9.75	10.00	10.00
	2	---	9.50	9.75	10.25	10.25	10.25	10.00	10.00	10.25	---	10.00	10.00	10.00	10.00
	3	---	9.00	9.25	9.75	9.75	9.75	9.75	9.75	9.75	---	9.75	9.75	9.75	9.75
	4	---	8.50	9.00	9.50	9.75	9.75	9.75	9.75	9.75	---	9.75	9.75	9.75	9.75
	5	---	9.25	9.25	9.50	9.75	9.75	9.75	9.75	9.75	---	9.75	9.75	9.75	9.75
	6	---	8.50	9.25	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	---	9.75	9.50	9.50	9.75
	7	---	8.75	9.50	10.00	10.25	10.25	10.25	10.25	10.25	---	10.00	9.75	9.50	9.50
	8	---	9.25	9.50	9.50	9.75	9.75	9.75	9.75	9.75	---	9.75	9.50	9.75	9.75
	9	---	9.25	9.50	9.50	9.75	9.75	9.75	9.75	9.75	---	10.00	9.50	9.50	9.50
	10	---	8.75	9.50	10.25	10.25	10.25	10.25	10.25	10.25	---	9.50	9.75	10.00	10.00
	11	---	9.00	9.50	9.75	9.75	9.75	9.75	9.75	9.75	---	9.75	9.50	9.50	9.75
	12	---	9.00	9.00	9.50	9.50	9.50	9.50	9.50	9.50	---	10.00	10.00	9.75	9.75
	13	---	9.50	9.25	9.50	9.75	9.75	9.75	9.75	9.75	---	9.50	10.00	9.75	9.75
	14	---	9.00	9.75	10.00	10.25	10.25	10.25	10.25	10.25	---	10.00	9.50	9.50	9.50
	15	---	8.75	8.75	9.50	9.75	9.75	9.75	9.75	9.75	---	9.25	9.50	9.50	9.75
	16	---	9.75	9.75	9.50	9.75	9.75	9.75	9.75	9.75	---	10.25	10.00	10.00	10.00
	17	---	8.75	8.75	9.50	9.50	9.50	9.50	9.50	9.50	---	9.25	9.25	9.50	9.50
	18	---	9.15	9.50	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	---	9.25	9.25	9.25	9.50
	19	---	8.50	9.00	9.50	9.50	9.50	9.50	9.50	9.50	---	10.00	9.50	9.50	9.50
	20	---	9.00	9.50	10.00	10.25	10.25	10.25	10.25	10.25	---	9.50	9.50	9.75	9.75
	21	---	9.15	9.75	10.25	10.25	10.25	10.25	10.25	10.25	---	9.75	9.50	9.50	9.75
	22	---	8.50	9.25	9.75	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	---	9.25	9.50	9.50	9.50
	23	---	9.50	9.50	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	---	10.00	10.00	9.75	9.75
	24	---	9.75	9.75	10.25	10.25	10.25	10.25	10.25	10.25	---	9.50	9.25	9.25	9.50

GRUPO	Nro	PRETEST	POSTEST						GRUPO	Nro	PRETEST	POSTEST					
			HALO INHIBITORIO (mm)									HALO INHIBITORIO (mm)					
			24Hrs	48Hrs	72Hrs	7 Dias	24Hrs	48Hrs				72Hrs	7 Dias				
CEPA ENTEROCOCCUS FAECALIS CON AMOXICILINA + ACIDO CLAVULANICO	1	---	16.25	16.75	16.75	17.75	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00			
	2	---	16.75	17.00	17.50	18.25	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00			
	3	---	15.75	16.00	16.25	17.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00			
	4	---	16.00	16.75	17.00	17.75											
	5	---	16.25	16.75	16.75	17.50											
	6	---	16.50	17.00	17.50	18.00											
	7	---	15.75	16.25	16.75	17.50											
	8	---	16.25	16.75	16.75	17.50											
	9	---	16.50	17.00	17.25	17.75											
CEPA ENTEROCOCCUS FAECALIS CON SUERO FISIOLÓGICO																	



ANEXO N° 4
ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Estadísticos descriptivos del grupo experimental 1

grupo:1

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum	Median
dia1	24	2,63896	,670042	1,250	3,750	2,51500
dia2	24	2,73958	,653748	1,750	4,025	2,52500
dia3	24	2,82625	,703713	1,500	4,075	3,02500
dia 7	24	2,73958	,670042	1,750	4,025	2,52500

Estadísticos descriptivos del grupo experimental 2

grupo:2

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum	Median
dia1	24	6,01875	,720479	4,500	7,525	6,05000
dia2	24	6,18854	,674778	5,000	7,575	6,25000
dia3	24	6,33021	,686238	5,025	7,525	6,35000
dia 7	24	6,18854	,720479	5,000	7,575	6,25000

Estadísticos descriptivos del grupo control positivo

grupo:3

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum	Median
dia1	24	2,63896	,670042	1,250	3,750	2,51500
dia2	24	2,73958	,653748	1,750	4,025	2,52500
dia3	24	2,82625	,703713	1,500	4,075	3,02500
dia 7	24	2,73958	,670042	1,500	4,075	2,52500

COMPARACIÓN ENTRE EL GRUPO 1 Y GRUPO 2

día	1		2		3		7	
grupo	1	2	1	0	1	2	1	2
Mean	2,639	2,740	2,826	2,826	6,330	6,330	6,189	6,019
Median	2,515	2,525	3,025	3,025	6,350	6,350	6,250	6,050
Mode	2,000	2,525	2,075	2,075	6,000	6,000	6,250	6,250
Minimum	1,250	1,750	1,500	1,500	5,025	5,025	5,000	4,500
Maximum	3,750	4,025	4,075	4,075	7,525	7,525	7,575	7,525
Standard Deviation	,670	,654	,704	,704	,686	,686	,675	,720

COMPARACIÓN ENTRE EL GRUPO 1 Y GRUPO 3

día	1		2		3		7	
grupo	1	2	1	0	1	2	1	2
Mean	2,639	2,740	2,826	2,826	6,330	6,330	6,189	6,019
Median	2,515	2,525	3,025	3,025	6,350	6,350	6,250	6,050
Mode	2,000	2,525	2,075	2,075	6,000	6,000	6,250	6,250
Minimum	1,250	1,750	1,500	1,500	5,025	5,025	5,000	4,500
Maximum	3,750	4,025	4,075	4,075	7,525	7,525	7,575	7,525
Standard Deviation	,670	,654	,704	,704	,686	,686	,675	,720

COMPARACIÓN ENTRE EL GRUPO 2 Y GRUPO 3

día	1		2		3		7	
grupo	1	2	1	0	1	2	1	2
Mean	2,639	2,740	2,826	2,826	6,330	6,330	6,189	6,019
Median	2,515	2,525	3,025	3,025	6,350	6,350	6,250	6,050
Mode	2,000	2,525	2,075	2,075	6,000	6,000	6,250	6,250
Minimum	1,250	1,750	1,500	1,500	5,025	5,025	5,000	4,500
Maximum	3,750	4,025	4,075	4,075	7,525	7,525	7,575	7,525
Standard Deviation	,670	,654	,704	,704	,686	,686	,675	,720



COMPARACIÓN ENTRE EL GRUPO 1 Y GRUPO 2 EN LAS DIFERENTES LECTURAS.

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means					95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2- tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
dia1			Equal variances assumed						
			Equal variances not assumed						
dia2			Equal variances assumed						
			Equal variances not assumed						
dia3			Equal variances assumed						
			Equal variances not assumed						
dia7			Equal variances assumed						
			Equal variances not assumed						



ANEXO N° 5
SECUENCIA FOTOGRÁFICA



Recolección de Tara



Tara en vainas sin semillas



Tara Mezclada con Alcohol de 96°



Filtrado de Tara con papel filtro



Vaporizado del Alcohol



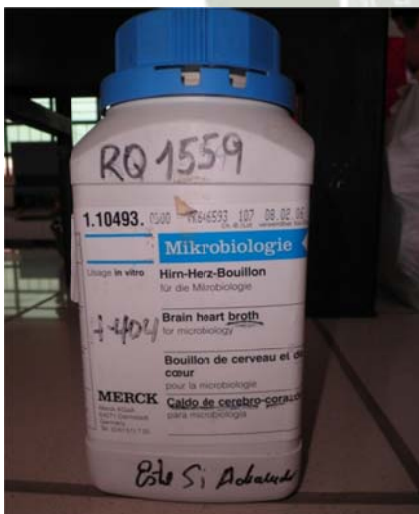
Medida de Alcohol en Tara



Dilución del Extracto de Tara



Extracto de Tara al 60%



Caldo Cerebro Corazón



Preparación según Fabricante



Preparación según fabricante



Caldo Cerebro Corazón Listo



Cepa Latente Enterococcus Faecalis



Reactivación de la cepa



Cámara de Anaerobiosis x 24 Hrs



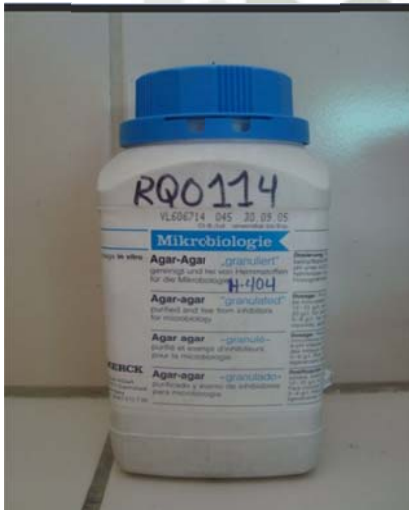
Caldo de Cultivo coN E. F



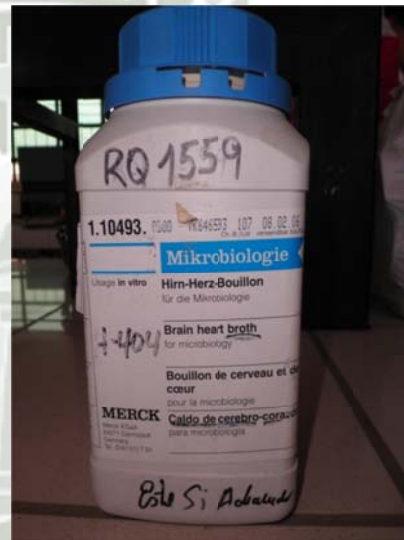
Espectrofotometro



Espectofotometr+ia Escala de Mac Farland



Agar Agar



Caldo Cerebro Corazón (BHI)



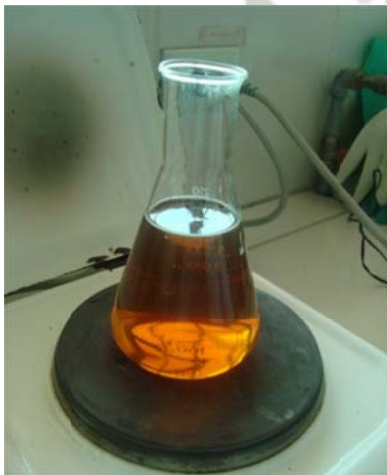
Agar Agar + BHI

Agar y Agua Destilada



Preparación Del Agar

Preparación del Agar



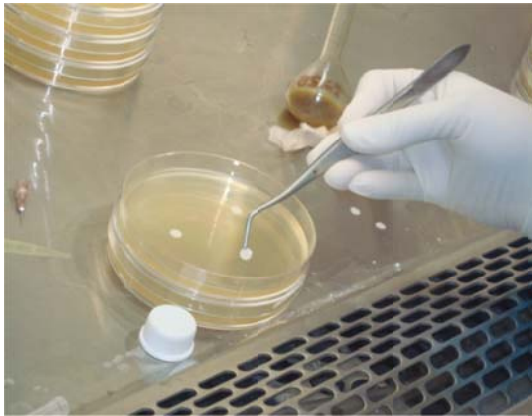
Homogenización Del Agar

Esterilización Del Agar



Plaqueo

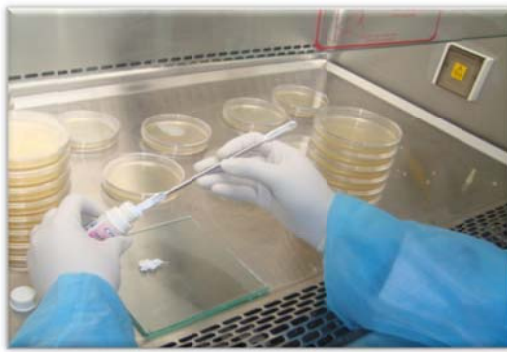
Preparación de Sensidiscos con Tara



Colocado de Sensidiscos con Tara



**Preparación de pozitos para $\text{Ca}(\text{OH})_2$ +
Gluconato de Clorhexidina al 2%**

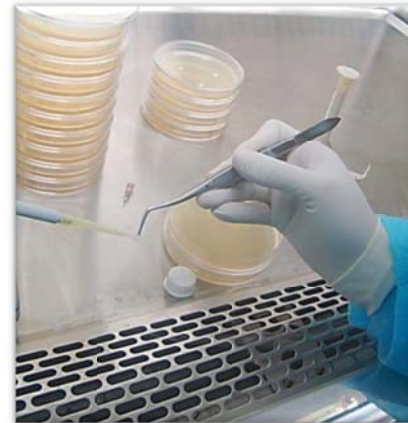


Preparación $\text{Ca}(\text{OH})_2$ + clorhexidina

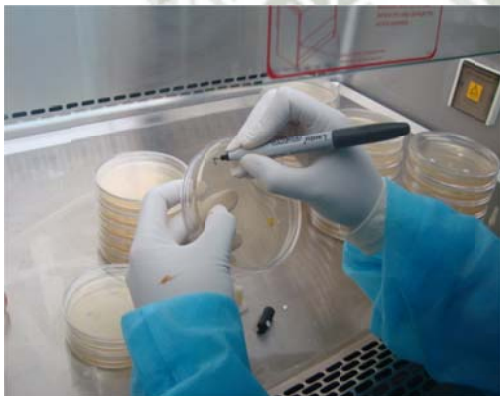
Colocado de Pasta de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ + clorhexidina



**Preparación y colocado de Control Positivo
(Amox. + Acido Clavulánico)**



**Colocado de Control Negativo
(Suero)**



Rotulado de Placas



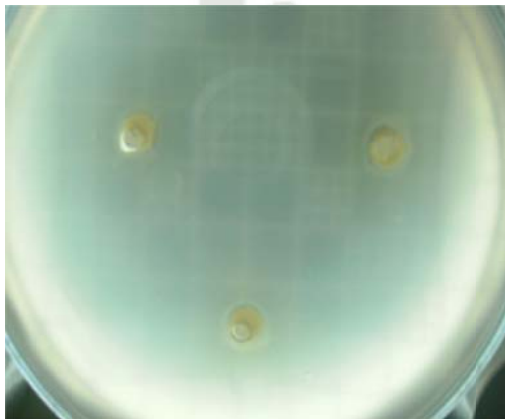
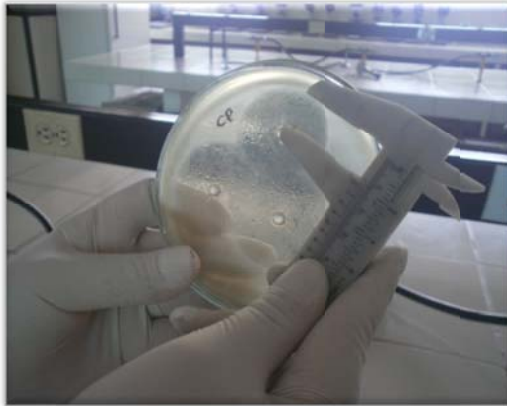
Placas Petri em Cámara de Anaerobiosis



**Toma de medidas Ca(OH)₂
+ Gluconato de Clorhexidina**

Toma de medidas Tara





Toma de medida Control Positivo

Control Negativo

