

**Universidad Católica de Santa María**

**Facultad de Odontología**

**Escuela Profesional de Odontología**



**EFICACIA DEL QUITOSANO EN COMPARACIÓN AL HIDROXIDO DE  
CALCIO SOBRE ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA- PERÚ 2019**

Tesis presentada por el Bachiller:

**Morales Jiménez, Deyna Ysela**

Para optar el Título Profesional de

**Cirujana Dentista**

**Asesor:**

**Dr. Figueroa Banda, Alberto**

**Arequipa- Perú**

**2019**



Universidad Católica de Santa María

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

AREQUIPA - PERU

DR.(A) HUGO TEJADA PRADELL

**BOLETA DE DICTAMEN DE BORRADOR DE TESIS Nro 084**

Vista la solicitud que presenta don (ña) **DEYNA YSELA MORALES JIMENEZ** a fin de sobre el dictamen de la Tesis titulada **"EFICACIA DEL QUITOSANO EN COMPARACION AL HIDROXIDO DE CALCIO SOBRE EL ENTEROCOCCUS FAECALIS- AREQUIPA 2019"** y en concordancia con la Ley Universitaria 30220, y el Art. 13 del Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Odontología, se nombra **SEGUNDO Y TERCER JURADO DICTAMINADOR** para que en el lapso de ocho a diez días, se sirvan evaluar el dictamen correspondiente

DR.(A) HUGO TEJADA PRADELL  
DR.(A) VICTORIA PERALTILLA APAZA  
DR. (A) RUTH ALVAREZ MONGE

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

DR. HERBERT CALLEGOS VARGAS  
Decano de la Facultad de Odontología

Arequipa, 13 de NOVIEMBRE del 2019

INFORME

*Se ha realizado los cambios sugeridos.  
por el servicio cumple con todos dictamen  
favorable al presente Borrador de tesis.*

*Atentamente.  
[Firma]*

Arequipa, 2019 *19-NOV*

2019-11-13  
10:25



Universidad Católica de Santa María

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

AREQUIPA - PERÚ

DR.(A) RUTH ALVAREZ MONGE

**BOLETA DE DICTAMEN DE BORRADOR DE TESIS Nro 084**

Vista la solicitud que presenta don (ña) **DEYNA YSELA MORALES JIMENEZ** a fin de sobre el dictamen de la Tesis titulada **"EFICACIA DEL QUITOSANO EN COMPARACION AL HIDROXIDO DE CALCIO SOBRE EL ENTEROCOCCUS FAECALIS- AREQUIPA 2019"** y en concordancia con la Ley Universitaria 30220, y el Art. 13 del Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Odontología, se nombra SEGUNDO Y TERCER JURADO DICTAMINADOR para que en el lapso de ocho a diez días, se sirvan evaluar el dictamen correspondiente

DR.(A) HUGO TEJADA PRADELL  
DR.(A) VICTORIA PERALTILLA APAZA  
DR. (A) RUTH ALVAREZ MONGE

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA  
  
DR. HERBERT SALLEGOS VARGAS  
Facultad de Odontología

Arequipa, 13 de NOVIEMBRE del 2019

INFORME

19-11-2019.- mejorar la introducción y resumen.

20-11-2019.- Detallar la metodología.

25-11-2019.- Usar mejor sinopsis/Resumen

26-11-2019.- Ampliar la bibliografía

28-11-2019 Sr. Decano

Visto, Revisado y Concedido el borrador de Tesis "Eficacia del Quitosano en comparación al Hidroxido de Calcio sobre el enterococcus faecalis - Arequipa 2019" se da por para sustentación

Arequipa, 2019. Noviembre 28

2019-11-13  
10:25



Universidad Católica de Santa María

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

AREQUIPA - PERÚ

DR.(A) VICTORIA PERALTILLA APAZA

**BOLETA DE DICTAMEN DE BORRADOR DE TESIS Nro 084**

Vista la solicitud que presenta don (ña) **DEYNA YSELA MORALES JIMENEZ** a fin de sobre el dictamen de la Tesis titulada "EFICACIA DEL QUITOSANO EN COMPARACION AL HIDROXIDO DE CALCIO SOBRE EL ENTEROCOCCUS FAECALIS- AREQUIPA 2019" y en concordancia con la Ley Universitaria 30220, y el Art. 13 del Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Odontología, se nombra SEGUNDO Y TERCER JURADO DICTAMINADOR para que en el lapso de ocho a diez días, se sirvan evaluar el dictamen correspondiente

DR.(A) HUGO TEJADA PRADELL  
DR.(A) VICTORIA PERALTILLA APAZA  
DR. (A) RUTH ALVAREZ MONGE

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

DR. HERBERT ALLEGROS VARGAS  
Decano de la Facultad de Odontología

Arequipa, 13 de NOVIEMBRE del 2019

INFORME

Por Srta. Deyna Ysela Morales Jimenez, ha convalidado con todas las colecciones y suscripciones en el presente trabajo de investigación; por lo tanto voy a pasar a la Comisión de Grados y Títulos para el trámite correspondiente.

*Victoria Peraltila Apaza*

Arequipa, 2019, NOVIEMBRE 26.

2019-11-13  
10:25

## AGRADECIMIENTO

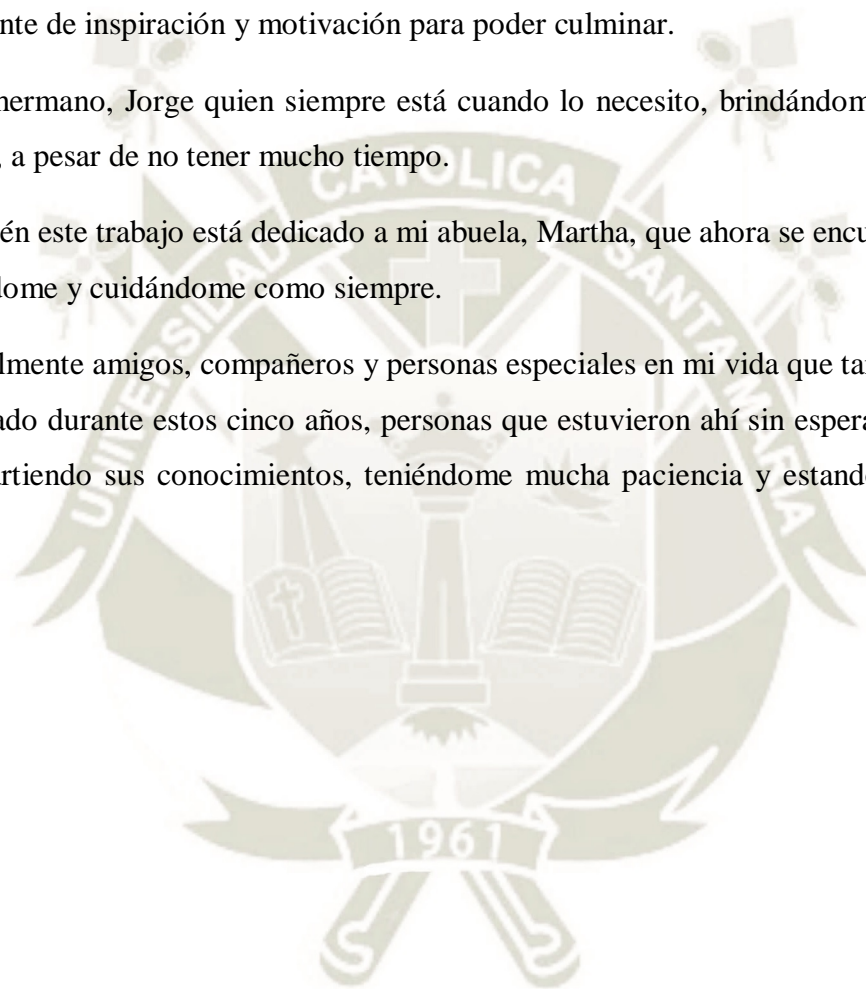
Agradezco principalmente a mis padres, a mi padre Jorge porque siempre estuvo apoyándome, ayudándome y preocupado por mis avances; siendo perseverante en que finalizará este proyecto para que pueda continuar como muchos más.

A mi madre, Roxana que siempre me estuvo apoyando con paciencia, y comprensión, siendo mi fuente de inspiración y motivación para poder culminar.

A mi hermano, Jorge quien siempre está cuando lo necesito, brindándome sus consejos y apoyo, a pesar de no tener mucho tiempo.

También este trabajo está dedicado a mi abuela, Martha, que ahora se encuentra en el cielo, guiándome y cuidándome como siempre.

Y finalmente amigos, compañeros y personas especiales en mi vida que también estuvieron a mi lado durante estos cinco años, personas que estuvieron ahí sin esperar nada a cambio compartiendo sus conocimientos, teniéndome mucha paciencia y estando presentes a mi lado.



## RESUMEN

Existen estudios sobre el uso del quitosano en el área de medicina, pero son pocos. Los limitados estudios llevaron al autor a investigar las propiedades del quitosano, en particular el efecto bactericida sobre *Enterococcus faecalis*; aunque se pueden aprovechar otras propiedades más, si, se sigue realizando estudios para verificarlos, e incluso fabricar productos, como el Hemcom®, el cual se basó en el efecto coagulante, este es un apósito que ayuda a la coagulación de heridas de gran magnitud.

Basándonos en los resultados de una investigación anterior, se utilizó los resultados de mayor efecto, para compararlos con una solución de hidróxido de calcio, muy usado en odontología e igualmente según antecedentes es eficaz contra *E. faecalis*.

El objetivo fue comparar la eficacia del quitosano En comparación al hidróxido de calcio sobre *Enterococcus faecalis*.

Se utilizó cepas certificadas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212, adquiridas de laboratorios de GemLab Perú; se elaboró las soluciones de quitosano en diferentes porcentajes, 2.5%, 3.0% y 3.5%, disueltos en ácido acético al 2.0%, y una solución de hidróxido de calcio al 0.2% más agua destilada preparada según instrucciones del fabricante. La eficacia se evaluó por el diámetro de halo de inhibición, utilizando la técnica Kirby – Bauer.

Los resultados obtenidos demostraron que, el quitosano al 3.0% fue más eficaz que el hidróxido de calcio al 0.2% sobre *Enterococcus faecalis*, dado que el halo de inhibición máximo del quitosano al 3.0% fue 22 mm, y el hidróxido obtuvo un halo de inhibición máximo de 13 mm; aceptando la hipótesis sobre que el quitosano tendría una similar o mayor eficacia que el hidróxido de calcio sobre *Enterococcus faecalis*, concluyendo así que el quitosano al 3.0% es más eficaz que el hidróxido de calcio al 0.2%.

**Palabras clave:** *Enterococcus faecalis*, difusión agar con método Kirby – Bauer, quitosano, hidróxido de calcio, propiedad bactericida, halo inhibitorio.

## ABSTRACT

There are studies about chitosan in the medicine's area, but are few. The few properties studied lead to the author to research over a one special, the bactericide property of chitosan on *Enterococcus faecalis*; but let's take advantage of the others properties with more study, also make products like Hemcom®, this is a bandage with coagulant property, it's use to small and big injuries.

Based in the past investigation's results, we used the results with more efficiency in the *Enterococcus faecalis*, to then compare the grade of efficiency between a calcium hydroxide solution and 2.0% acetic acid solution with different percentages of chitosan.

The objective was compare the bactericide property of chitosan and calcium hydroxide on *Enterococcus faecalis*.

Used a standard *Enterococcus faecalis*'s strain of the GemLab's laboratories, this strain was ATCC29212, then made a chitosan solution with different percentages, 3.5%, 3.0% and 2.5%, dissolved in 2.0% acetic acid solution and 0.2% calcium hydroxide solution with distilled water prepared as manufacturer's instruction. The efficiency of the solutions was evaluated with diameter of inhibition's halo with the Kirby – Bauer method.

The results demonstrated that. The 3.0% chitosan solution had more efficiency statistically than 0.2% calcium hydroxide solution on *Enterococcus faecalis*. The maximum inhibition's halo of 3.0% chitosan solution was 22 mm and 0.2% calcium hydroxide solution was 13 mm; Accepting the hypothesis, the chitosan solution will have similar or more efficiency than calcium hydroxide solution on *Enterococcus faecalis*; in conclusion, the chitosan solution 3.0% is more efficiency than 0.2% calcium hydroxide solution.

**Keywords:** *Enterococcus faecalis*, agar diffusion with Kirby – Bauer method, chitosan, Calcium hydroxide, antibacterial efficacy, halo inhibitor.

## INTRODUCCIÓN

Arequipa es una de las ciudades al sur del Perú con mayor población de camarones de río, especialmente en las zonas de Ocoña, Majes – Camaná y Tambo (1).

El cascarón de los camarones o exoesqueleto, es considerado casi un desecho, pero gracias a la tecnología y a procesos químicos, se obtiene quitina, biopolímero, con muchas propiedades favorables para el uso en el área de medicina, por otra parte, una de sus desventajas es su poca solubilidad, por eso se buscó derivados de ella como el quitosano, se obtiene de un proceso de desacetilación, puede tener diferentes porcentajes de desacetilación, y pesos moleculares; para el área de medicina se utiliza más el quitosano de bajo peso molecular (2).

El aumento del uso de quitosano en el área de medicina se debe a que es un biomaterial, eso quiere decir que es bastante compatible con el cuerpo humano, también se destacó su efecto bactericida, basado en artículos anteriores esta propiedad es eficaz sobre *Enterococcus Faecalis*, esta bacteria existe de manera oportunista en la cavidad oral, pero su hábitat natural es el intestino, es oportunista, se aprovecha de huéspedes inmune – comprometidos y pacientes geriátricos, pero últimamente se ha demostrado que se encuentra como microbiota oral normal sin presentar síntomas, y al ser oportunista aprovecharán cualquier baja del sistema inmune para provocar enfermedades

Esta bacteria origina infecciones en la pulpa dental, infecciones periapicales, en la placa bacteriana de pacientes que padecían de inflamación en las encías y presente en los sacos periodontales (3).

Se demostró que por sus propiedades como, subsistir en altas temperaturas, resistir a pH extremos como el de la bilis, resistir a hábitats con niveles bajos de oxígeno (anaerobia facultativa), por adquirir resistencia a antibiótico y por su gran capacidad mutagénica; los tratamientos endodónticos fracasan, por eso es importante tener un irrigador bactericida adecuado para redimir su proliferación.

Dado que la resistencia a medicamentos del *Enterococcus faecalis* ha ido en aumento, se busca alternativas de tratamiento, y se propone el quitosano, que basado en antecedentes ha demostrado su efectividad sobre *Enterococcus faecalis*; y este trabajo pretende comparar la eficacia del quitosano frente al hidróxido de calcio.

## ÍNDICE GENERAL

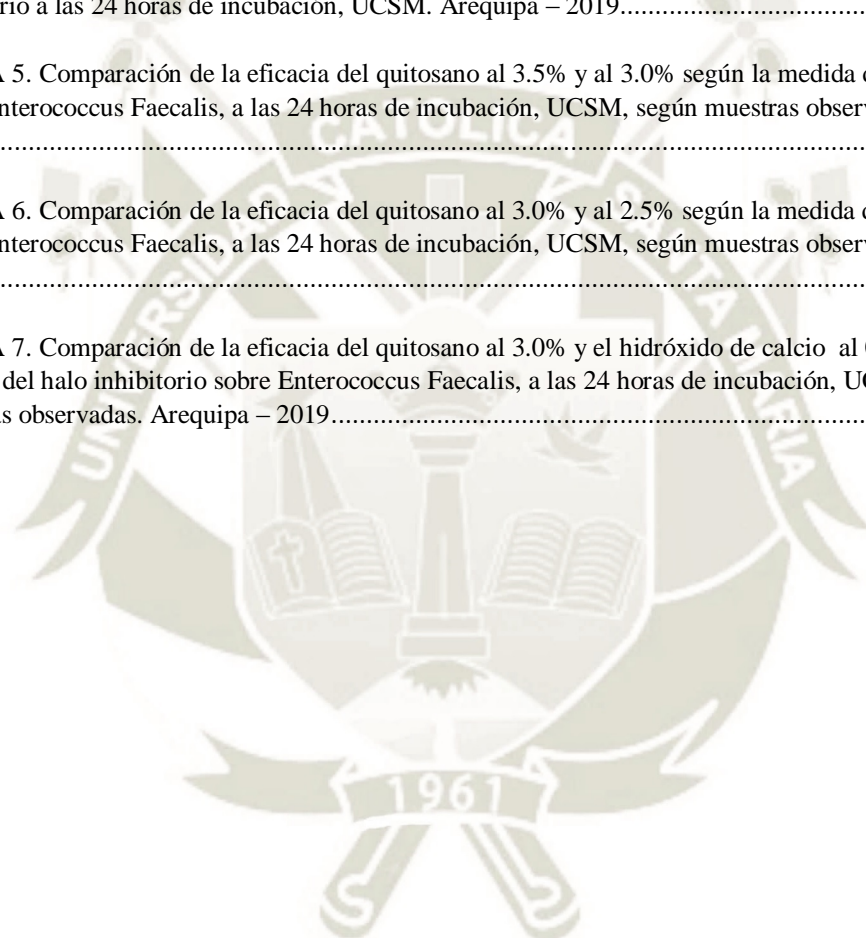
AGRADECIMIENTO .....	i
RESUMEN.....	ii
ABSTRACT .....	iii
INTRODUCCIÓN .....	iv
CAPITULO I .....	1
PLANTEAMIENTO TEÓRICO .....	1
1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN. ....	2
1.1. Determinación del problema. ....	2
1.2. Enunciado.....	3
1.3. Descripción del problema. ....	3
1.3.1. Área de conocimiento.....	3
1.3.2. Operacionalización de variables.....	3
1.3.3. Interrogantes básicas.....	4
1.3.4. Taxonomía de la investigación.....	4
1.4. Justificación.....	4
1.4.1. Novedad.....	4
1.4.2. Relevancia pragmática.....	4
1.4.3. Factibilidad.....	5
1.4.4. Interés para el investigador.....	5
2. OBJETIVOS.....	5
3. MARCO TEÓRICO.....	6
3.1. Marco conceptual.....	6
3.1.1. Enterococcus.....	6
3.1.2. Enterococcus faecalis.....	7
3.1.3. Hidróxido de calcio.....	8
3.1.4. Biomateriales.....	12
3.1.5. Quitosano.....	12
3.2. Análisis de antecedentes investigativos.....	17
4. HIPOTESIS.....	21
CAPITULO II.....	22
PLANEAMIENTO OPERACIONAL .....	22
1. TÉCNICAS, INSTRUMENTO Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN.....	23
1.1. Técnica.....	23
1.1.1. Especificación.....	23
1.1.2. Esquemmatización.....	23
1.1.3. Diseño investigativo.....	23
1.2. Instrumento.....	24
1.2.1. Instrumento documental.....	24

1.3. Materiales.....	24
2. CAMPO DE VERIFICACIÓN. ....	26
3. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN.....	27
4. ESTRATEGIA PARA MANEJAR DATOS .....	28
CAPITULO III .....	32
RESULTADOS .....	32
1. DISCUSIÓN.....	47
2. CONCLUSIONES.....	50
3. RECOMENDACIONES.....	50
4. BIBLIOGRAFÍA.....	52



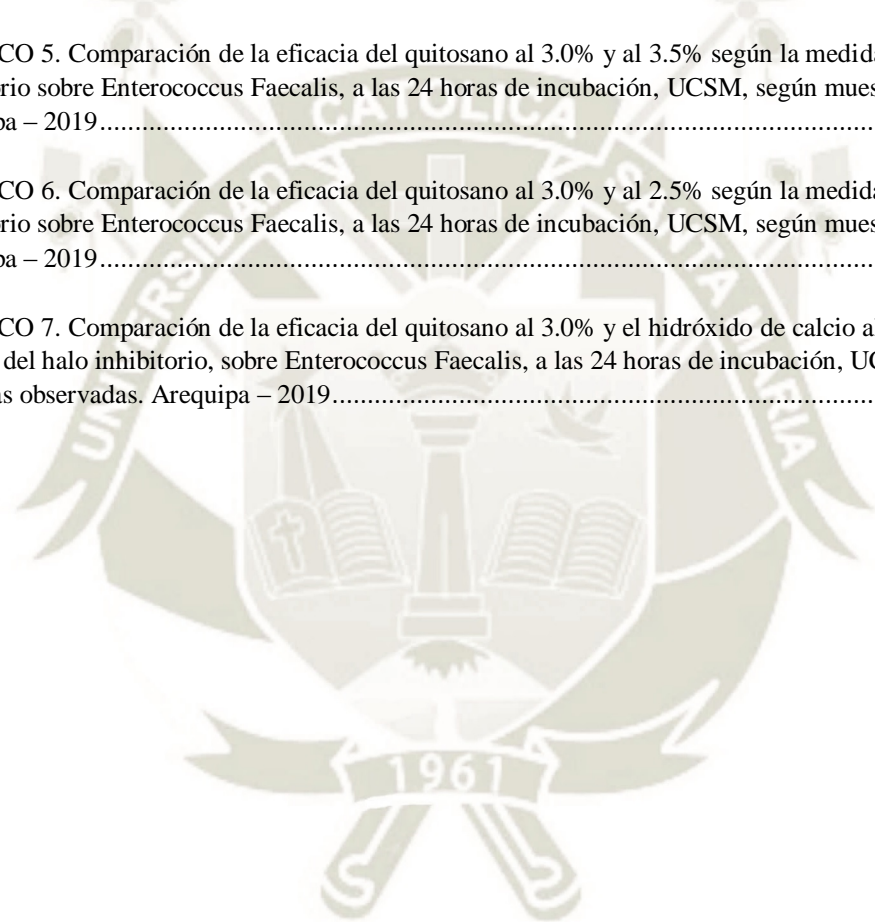
## INDICE DE TABLAS

TABLA 1. Eficacia del quitosano al 3.5% sobre Enterococcus Faecalis, según la medida en (mm) de halo inhibitorio a las 24 horas de incubación, UCSM. Arequipa – 2019.....	33
TABLA 2. Eficacia del quitosano al 3.0% sobre Enterococcus Faecalis, según la medida en (mm) de halo inhibitorio a las 24 horas de incubación, UCSM. Arequipa – 2019.....	35
TABLA 3. Eficacia del quitosano al 2.5% sobre Enterococcus Faecalis, según la medida en (mm) de halo inhibitorio a las 24 horas de incubación, UCSM. Arequipa – 2019.....	37
TABLA 4. Eficacia del hidróxido de calcio sobre Enterococcus Faecalis, según la medida en (mm) de halo inhibitorio a las 24 horas de incubación, UCSM. Arequipa – 2019.....	39
TABLA 5. Comparación de la eficacia del quitosano al 3.5% y al 3.0% según la medida del halo inhibitorio, sobre Enterococcus Faecalis, a las 24 horas de incubación, UCSM, según muestras observadas. Arequipa – 2019.....	41
TABLA 6. Comparación de la eficacia del quitosano al 3.0% y al 2.5% según la medida del halo inhibitorio sobre Enterococcus Faecalis, a las 24 horas de incubación, UCSM, según muestras observadas. Arequipa – 2019.....	43
TABLA 7. Comparación de la eficacia del quitosano al 3.0% y el hidróxido de calcio al 0.2% según la medida del halo inhibitorio sobre Enterococcus Faecalis, a las 24 horas de incubación, UCSM, según muestras observadas. Arequipa – 2019.....	45



## ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1. Eficacia del quitosano al 3.5% sobre Enterococcus Faecalis, según la medida en (mm) de halo inhibitorio a las 24 horas de incubación, UCSM. Arequipa – 2019.....	34
GRÁFICO 2. Eficacia del quitosano al 3.0% sobre Enterococcus Faecalis, según la medida en (mm) de halo inhibitorio a las 24 horas de incubación, UCSM. Arequipa – 2019.....	36
GRÁFICO 3. Eficacia del quitosano al 2.5% sobre Enterococcus Faecalis, según la medida en (mm) de halo inhibitorio a las 24 horas de incubación, UCSM. Arequipa – 2019.....	38
GRÁFICO 4. Eficacia del hidróxido de calcio al 0.2% sobre Enterococcus Faecalis, según la medida en (mm) de halo inhibitorio a las 24 horas de incubación, UCSM. Arequipa – 2019 .....	40
GRÁFICO 5. Comparación de la eficacia del quitosano al 3.0% y al 3.5% según la medida del halo inhibitorio sobre Enterococcus Faecalis, a las 24 horas de incubación, UCSM, según muestras observadas. Arequipa – 2019.....	42
GRÁFICO 6. Comparación de la eficacia del quitosano al 3.0% y al 2.5% según la medida del halo inhibitorio sobre Enterococcus Faecalis, a las 24 horas de incubación, UCSM, según muestras observadas. Arequipa – 2019.....	44
GRÁFICO 7. Comparación de la eficacia del quitosano al 3.0% y el hidróxido de calcio al 0.2% según la medida del halo inhibitorio, sobre Enterococcus Faecalis, a las 24 horas de incubación, UCSM, según muestras observadas. Arequipa – 2019.....	46





# CAPITULO I

## PLANTEAMIENTO TEÓRICO

## 1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.

### 1.1. Determinación del problema.

*Enterococcus faecalis*, es una bacteria anaerobia facultativa, es decir puede existir con normalidad en ambientes con o sin oxígeno. Tiene gran resistencia y sobrevive en ambientes extremos. Su habitat normal es el intestino, así como el área genital de las mujeres, el área perineal y meato urinario en los hombres, sin presentar síntomas; aunque, se puede encontrar de forma accidental y posiblemente como microbiota normal en la cavidad oral, en conductos dentales, y en infecciones del periodonto.

Cuando un odontólogo trata una infección dentro de la cavidad oral, debe aplicar un bactericida para eliminar completamente las bacterias. Lo que usualmente no se llega a obtener; existen estudios donde *Enterococcus faecalis* permanece aún después de haber terminado el tratamiento, ocasionando posteriormente un fracaso, pudiendo provocar otra infección la cual originará una degeneración del hueso.

En odontología, se usan irrigaciones o pastas para tratar las infecciones, ¿Cómo saber cuál es la mejor, contra esta bacteria en específico?; antes de escoger el irrigante a utilizar, se debe conocer sus propiedades.

El hidróxido de calcio es frecuente usado por el odontólogo, por su acción bactericida y anti fúngica además de inducir a la producción de anticuerpos, se usa junto a un vehículo como, suero fisiológico, anestesia o clorhexidina.

Buscando una nueva alternativa surgió el quitosano, un biomaterial, con propiedades hemostática, bacteriostática e inmunoadyuvantes, sin embargo, existen pocos estudios sobre este polímero y sus beneficios.

Al existir investigaciones sobre las propiedades del quitosano, pero ser pocas, es necesario realizar más, para saber si la propiedad bactericida del quitosano en comparación a la del hidróxido de calcio es efectiva o no, sobre *Enterococcus faecalis*.

## 1.2. Enunciado.

Eficacia del quitosano en comparación al hidróxido de calcio sobre el *Enterococcus faecalis* – Arequipa 2019.

## 1.3. Descripción del problema.

La eliminación de *Enterococcus faecalis* es difícil porque es una bacteria que puede existir en ambientes tóxicos para otras, resiste a la bilis, crecer en ambientes de hasta 45 °C y sobrevive con pocos nutrientes. Además de la resistencia natural, tiene la capacidad de adquirir más resistencia y genes de virulencia.

### 1.3.1. Área de conocimiento.

- Área general: ciencias de la salud
- Área específica: odontología
- Especialidad: microbiología

### 1.3.2. Operacionalización de variables.

VARIABLES COMPRATIVAS	INDICADORES	SUBINDICADORES
Quitosano	Concentraciones	- 2.5% - 3.0% - 3.5%
Hidróxido de calcio	Concentración	- 0.2%
VARIABLE RESULTADO		
Inhibición del crecimiento de la cepa <i>E. faecalis</i>	Diámetro del halo inhibitorio en milímetros	- Sensible - Media - Resistente

### 1.3.3. Interrogantes básicas.

- ¿Cuál es la eficacia del hidróxido de calcio contra el *Enterococcus faecalis*?
- ¿Cuál es la eficacia de la quitosano contra el *Enterococcus faecalis*?
- Entre el quitosano y el hidróxido de calcio, ¿Cuál de estos dos tendrá mayor eficacia en el *Enterococcus faecalis*?

### 1.3.4. Taxonomía de la investigación.

ABORDAJE	TIPO DE ESTUDIO					DISEÑO	NIVEL
	Por la técnica de recolección	Por el tipo de dato	Por el N° de mediciones de la variable	Por el número de muestras	Por el ámbito de recolección		
Cuantitativo	Observacional	Prospectivo	Longitudinal	Analítico	Laboratorial	Experimental	Relacional

### 1.4. Justificación.

#### 1.4.1. Novedad.

Hay investigaciones anteriores sobre este tema, pero no son idénticas, esta mostrará originalidad ya que aportará resultados en forma comparativa con otro medicamento que es de mucho uso en el área de odontología, que es el hidróxido de calcio en base a su propiedad antimicrobiana frente a las propiedades bactericidas del quitosano.

#### 1.4.2. Relevancia pragmática.

En odontología el uso de hidróxido de calcio es bastante común por sus propiedades, pero aun así no es tan efectivo sobre *Enterococcus Faecalis*,

estudios demostraron el uso del quitosano en odontología, para uso en regeneración ósea, además de ser un buen bactericida.

#### **1.4.3. Factibilidad.**

Esta investigación es factible por existir investigaciones anteriores relacionadas con este tema, sobre la propiedad bactericida del quitosano sobre la bacteria *Enterococcus Faecalis*. Además se tienen los materiales necesarios y la sepa de la bacteria para esta investigación.

#### **1.4.4. Interés para el investigador.**

Es de mi interés, el realizar esta investigación para conocer la eficacia del quitosano con respecto a sus propiedades bactericidas contra el *Enterococcus Faecalis*, el cual es una bacteria con gran resistencia ante algunas medicaciones.

## **2. OBJETIVOS.**

- 2.1. Determinar la actividad bactericida del quitosano sobre *Enterococcus Faecalis*.
- 2.2. Determinar la actividad bactericida del hidróxido de calcio sobre *Enterococcus Faecalis*.
- 2.3. Comparar la eficacia del quitosano e hidróxido de calcio sobre *Enterococcus Faecalis*.

### 3. MARCO TEÓRICO.

#### 3.1. Marco conceptual.

##### 3.1.1. Enterococcus.

- **Concepto.**

El *Enterococcus* es una sub-especie morfológicamente parecida al estreptococo, su hábitad normal es el intestino.

Además en estudios se demostró que también se encuentran en el área genital en las mujeres y en los hombre en el área perineal y meato urinario, aparte muestran un número más alto en las mujeres sin presentar síntomas (4).

Las características de los *Enterococcus* son: forma microscópica esférica u ovoide, no fabrican endoesporas, se exponen en cadenas cortas o pares, no puede moverse espontanea ni independientemente, exceptuando a *E. gallinarum* y *E. casseliflavus*, otra de las características de los enterococcus es que pueden existir en ambiente con y sin oxígeno, además tienen un metabolismo fermentativo y, también utiliza como fuente de energía y carbono a los compuestos orgánicos. Los enterococcus producen un ph final de 4,2 a 4,6 y son resistentes a la bilis, pueden crecer hasta en una temperatura de 45°C (4).

La exigencia nutricional del *Enterococcus* es compleja. Uno de los *Enterococcus* más aislados clínicamente es *E. Faecalis* y *E. Faeium*. Ellos suelen aprovechar los procesos oportunistas donde causaran infecciones diversas, también causan varias infecciones extraorales que suelen ser difíciles de tratar con un tratamiento antibiótico generalmente los antibióticos de amplio espectro los eligen fácilmente (3).

Existe una duda sobre el valor de este género de microorganismos en la microbiota oral, porque se suele encontrar como microbiota normal, en el dorso de la lengua y en la placa bacteriana, estos hallazgos se encontraron más que todo en personas con sistema inmune comprometido, también se aisló en enfermedades dentales como infecciones pulpales, periapicales, también bolsas periodontales y en placa de paciente que padecen de gingivitis (3).

### 3.1.2. *Enterococcus faecalis*.

- **Concepto.**

El *Enterococcus faecalis* es una bacteria anaerobia facultativa, necesitan un cultivo enriquecido en sangre para existir. Estas bacterias son importantes en procesos patológicos orales (3).

Una de las características principales del *E. faecalis*, es que existe y se desarrolla en microambientes tóxicos para varias bacterias; por ejemplo, en conductos dentales de piezas que han recibido un tratamiento endodóntico, donde el ambiente tiene muy pocos nutrientes.

Lamentablemente algunos agentes antimicrobianos influyen en esta especie de *Enterococcus*, hace que permanezca en diente afectados.

Además este género existe en temperaturas extremas, la cavidad oral tiene una de las temperaturas levemente más baja que la normal de todo el cuerpo, de 35° a 36°, aunque la temperatura es variable constantemente por el tipo de alimentación, según eso, su temperatura cambiara desde cero hasta por encima de 50°, a causa de esto, los microorganismos deben de saber aguantar estos cambios o serán eliminados y por ultimo también soporta la acción de colorantes, uno de ello, el azul de metileno al 0,1% y sobrevive en áreas con concentraciones de sal altas (5) (6).

- **Patogenicidad y virulencia.**

El *E. faecalis* es un patógeno oportunista ya que tiene poco potencial patogénico en una persona normal, generalmente tienen más oportunidad en paciente geriátricos o inmunocomprometidos ya que aprovechan cuando las defensas del cuerpo bajan.

Los factores de virulencia son que provoca la lisis de eritrocitos, leucositos y plaquetas, es decir produce hemolisina, también sustancias de agregación, proteasas, aglutininas y, además tiene carbohidratos en su pared celular los cuales favorecen en la adherencia a los tejidos del huésped, esto ocasionara un incremento de su patogenicidad.

- **Resistencia antimicrobiana.**

*E. faecalis* tiene una resistencia natural a antibióticos, es de carácter cromosómico y no transferible, es resistente a varios medicamentos como cefalosporinas, penicilinas, antifúngicos como el clotrimoxazol, a betalactámicos como meropenem y ertapenem, a aminoglicosidos y clindamicina. El *E. faecalis* también es resistente a ampicilina, piperacilina e imipenem. Además de la resistencia natural, también tiene la característica de adquirir resistencia y genes de virulencia, los pueden adquirir de plásmidos, que son vectores de información, transposones, también por intercambio cromosómico o simplemente por mutación.

Esta bacteria se encuentra comúnmente en hospitales, en el área de cuidados intensivos, ya que es una bacteria oportunista y aprovecha huéspedes inmunocomprometidos, como se mencionó anteriormente. Como se sabe este género de bacterias tienen una gran resistencia natural y también pueden adquirirla, algunas cepas ya son bastante resistente a todos los antimicrobianos disponibles y hace que la terapéutica contra ellos sea bastante limitada, lo que a continuación provoca que sea una amenaza. Una de las pocas prevenciones que se puede tener es evitar el uso excesivo e innecesario de antimicrobianos y también reducir el uso de dispositivos invasivos, ya que usualmente estos equipos podrían afectar su sistema inmune (4) (7).

### 3.1.3. Hidróxido de calcio.

- **Concepto.**

El hidróxido de calcio es un polvo de color blanco, sin olor, el cual se consigue de la calcinación del carbonato cálcico. Usualmente se mezcla con algún vehículo para su aplicación. El Ph del hidróxido de calcio es alcalino va desde 12 a 4, este Ph ayuda al hidróxido de calcio a ser letal contra bacterias (8).

- **Efecto bactericida y bacteriostático.**

Gracias al mecanismo de acción del hidróxido de calcio, ayuda a inhibir el crecimiento y división celular de bacterias anaerobias, tiene gran efecto

sobre ellas. Este mecanismo de acción se activa un ambiente con Ph alto.

El Ph del hidróxido de calcio es 12,5; este Ph alto lo hara efectivo contra bacterias que no puedan sobrevivir a un Ph tan alto, como por ejemplo E. Faecalis que sobrevive a Ph mayores de 11.

Ensayos comparativos del uso de paramonoclorofenol y formocresol solos y más el hidróxido de calcio, demostraron que, solos hubo una efectividad mayor al 50 por ciento contra bacterias, pero cuando se usaron más el hidróxido de calcio resulto en mayor efectividad en la reducción de bacterias (9) (10).

- **Efecto antiséptico.**

Según autores el hidróxido de calcio es un antiséptico lento porque requiere estar en la infección por lo menos 24 horas para poder eliminar completamente la bacteria enterococcus. El efecto antiséptico es por su alto Ph y su acción en tejido pulpares necróticos. También el hidróxido de calcio descompone capas de la bacteria (11).

- **Efecto terapéutico.**

El efecto terapéutico del hidróxido de calcio no es bien comprendido, pero algunos autores explican que se puede deber a que tiene efectos sobre fosfatasa alcalina, la cual sirve para la formación de tejidos óseos; por ejemplo cuando sucede algún accidente operatorio o la cavidad realizada es muy profunda, se suele utilizar hidróxido de calcio para la regeneración de dentina, formando un puente dentinario, aunque este tendrá deficiencias estructurales (12) (13) (10).

- **Efecto antiinflamatorio.**

El hidróxido de calcio ocasionara una disminución del Ph, en tejidos inflamados, estimulara la liberación de prostanglandinas las cuales tendrán

efectividad sobre la presión sanguínea de la zona, obteniendo un efecto antiinflamatorio (14).

- **Efecto mineralizante.**

Cuando el medicamento baja el nivel de oxígeno en la zona, provoca la osteo – formación, formando así los puentes dentinarios o reparándolos. Desde hace décadas el hidróxido de calcio fue el medicamento a elección por odontólogos después de cavidades muy profundas, accidentes operatorios, en general cuando alguna exposición pulpar.

Uno de los grandes beneficios más estudiados sobre e hidróxido de calcio es su formación de puentes dentinarios, se realizaron estudios donde se empleaba el hidróxido de calcio en forma de pasta en dientes temporales con la pulpa expuesta, los resultados que se obtuvieron fueron que el medicamento necroso la parte de la pulpa cerca al medicamento, pero debajo de esta necrosis se observó odontoblastos los que formaban el puente (10).

- **Vehículos para el hidróxido de calcio.**

El hidróxido de calcio al ser un medicamento en polvo se debe administrar mediante un vehículo, los vehículos más usados son:

- a. Solución fisiológica.**

Líquido inerte, no lesivo, de alta solubilidad; esta solución tiene gran efectividad siendo un antimicrobiano, eficaz contra streptococcus mutans, aureus y bacteroides. Mantiene alcalino el ambiente y tiene mejor índice de reparación.

- b. Solución anestésica.**

Ayuda en la hemostasia de la zona, no afecta la composición química, tiene bajo efecto sobre Enterococcus Faecalis.

**c. Agua destilada.**

Líquido inerte, igual que el suero fisiológico, tiene poca efectividad sobre bacterias aerobias estrictas.

**d. Hipoclorito de sodio.**

Solución de color amarillo verdoso y transparente, tiene efecto antibacteriano y antiviral.

**e. Clorhexidina.**

Sustancia antimicrobiana, juntos son un mejor medicamento, adquiere buenas propiedades antimicrobianas y mejora la reparación de tejidos periapicales (15).

- **Aplicaciones en odontología.**

**a. Cariología.**

Se puede utilizar como curación temporal, cuando el tratamiento tiene varias sesiones; al momento que ocurra algún accidente y este la pulpa expuesta, se puede aplicar el hidróxido de calcio, el cual necrosará la superficie de la pulpa y formará un tapon hemostático.

También cuando se realiza el retiro de caries profundas y se visualice una transparencia, se utilizará como protector pulpar, este formará dentina terciaria (16) (14).

**b. Endodoncia.**

El hidróxido de calcio tiene capacidad desnaturalizadora por eso es aplicado como irrigante, ayudando a eliminar el tejido necrótico remanente, dejando el campo desinfectado, además de ayudar en la hemostasia, también se utiliza para curar la periodontitis apical. El hidróxido de calcio también ayuda en el control de abscesos y exudados. También se puede utilizar cuando se realizan apicectomías, ayudando en la formación de ápice, formando osteocemento.

Uno de los accidentes operatorios en endodoncia son las perforaciones radiculares, el hidróxido de calcio detiene la reabsorción radicular,

cuando se coloque en el conducto absorberá agua y esto provocara su expansión al doble o triple del volumen inicial (14).

**c. Odontopediatría.**

Al momento de realizar pulpotomías, el hidróxido de calcio se usa en forma de pasta y formara una capa de dentina, protegiendo el resto de la dentina (14) (16).

**d. Accidentes dentales.**

Por algún golpe o accidente pueden fracturarse las raíces, primero se realizará una endodoncia y cuando este alineado, el hidróxido de calcio ayudará en su reparación. También puede sufrir una luxación y avulsión, para este accidente se realizará una endodoncia y se rellena el conducto con hidróxido de calcio, el que se cambia cada mes (14).

**3.1.4. Biomateriales.**

Los biomateriales son productos biocompatibles con el cuerpo humano, y se usan en medicina. Uno de los biomateriales son los polímeros, estos polímeros se usan en marcapasos, plasma coagulante, prótesis ortopédicas, bolsas de suero, capsulas para fármacos, suturas biodegradables y material odontológico. La quitina es un polímero que se puede extraer de crustáceos, plantas, en exoesqueletos, el uso de la quitina y sus derivados es muy prometedor en el área de biomédicas gracias a su naturaleza, su actividad biológica y la fácil obtención de esta. Estudio hablan sobre el mecanismo de acción y la eficiencia en áreas como agricultura, todos estos estudios fueron contralados pero no son muchos los que existen (17).

**3.1.5. Quitosano.**

- **Concepto.**

El quitosano [(1→4)-2-amino-2-desoxi-β-D-glucano] es un polisacárido de cadena lineal muy poco encontrado en la naturaleza y que se obtiene

mediante desacetilación extensiva de la quitina, un homopolímero  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) enlazado de la N-ace-til-D-glucosamina, presente en los exoesqueletos de crustáceos, moluscos, en la cutícula de insectos y como constituyente de paredes celulares de muchos tipos de hongos. La quitina es el segundo polisacárido en abundancia, después de la celulosa y es un recurso renovable. Se estima que la cantidad de quitina en crustáceos es de 1 .560 millones de toneladas. La quitina es estructuralmente similar a la celulosa en cuanto a su naturaleza de polisacárido, tiene un grado de disolución muy bajo en disolventes orgánicos. Mas durante los años se trató de desarrollar algún derivado que tenga mucha más solubilidad, entre los cuales se encontró al quitosano, este es soluble en disoluciones acuosas diluidas de ácidos orgánicos débiles (18).

- **Propiedades.**

- a. Actividad antibacteriana.**

El derivado de la quitina, el quitosano protege contra enfermedades bacterianas. Estudios in vitro demostraron que el quitosano es un bacteriostático de once diferentes bacterias. Otros autores demostraron que el quitosano también es bacteriostático de bacterias gram positivas y negativas. Pero existe una correlación inversa entre el peso molecular del quitosano y la inhibición del crecimiento. Estos resultados son confirmados por varios autores e investigadores.

Se experimentó en hojas tomate con el quitosano con derivados catiónicos y aniónicos, los primeros inhibieron la infección de Pseudomonas Syringae, mientras que los otros no lo hicieron. Entonces se llegó a la conclusión que los catiónicos son bacteriostáticos e inducen mecanismos naturales de defensa (17).

- b. Efecto analgésico.**

El quitosano absorbe un ion protonado presente en el sitio del dolor y también la bradikinina enzima importante en la producción de dolor.

**c. Efecto hemostático.**

Existen apósitos hemostáticos, por ejemplo, el HemCon, que están compuestos de quitosano, un derivado natural que se extrae de las conchas de crustáceos, que posee propiedades hemostáticas.

Cuando este entra en contacto con la sangre, se vuelve muy pegajoso y se adhiere a la herida, sellándose con eficacia.

Este apósito ayuda a la formación plaquetaria, formando un coágulo. Tiene la capacidad de controlar hemorragias grandes. Las características del apósito son: duradero, eficaz, seguro y como no contiene proteínas humanas o factores de coagulación, evita las reacciones alérgicas o contagio de enfermedades. Otra de las características del apósito es que no provoca reacciones exotérmicas, por lo que no producirá quemaduras como otros, la forma en que se retira es fácil, puede ser solo con agua y solución salina.

El HemCon se puede usar también para pequeñas heridas, se puede cortar en pequeños trozos y aplicarlos en las heridas; además ha demostrado un éxito en paciente que tomen anticoagulantes, no se observó ningún efecto contraproducente en las personas tratadas con él (19).

**d. Efecto antitumoral.**

Algunas aplicaciones con quitosano requieren que sea un material con bajo peso molecular, este tiene una alta solubilidad en agua libre de ácido y de baja viscosidad. También es efectivamente absorbido por el cuerpo humano. El quitosano es conocido por sus actividades biológicas como su actividad antitumoral, sus efectos antitumorales fueron revelados por Suzuki, Toroko y Tsukada (20).

Se realizó una investigación de quitosano soluble en agua y de bajo peso molecular, este producto fue preparado mediante membranas de ultrafiltración. Una fracción fue separada con peso molecular más de  $5 \times 10^3$  y con un grado de desacetilación de 58%. El quitosano LMW (de bajo peso molecular) y N-acetil, fue probada en ratones donde demostró que esta inyección inhibió el crecimiento de células tumorales de sarcoma

180 (S180) en ratones, y su tasa de inhibición máxima alcanzó el 64.2%. La administración oral de este medicamento también fue efectiva para disminuir el tamaño del tumor, y su tasa de inhibición máxima fue 33.7%. El quitosano soluble en agua con un más alto peso molecular podría resultar con una mejor actividad antitumoral (21).

**e. Efecto inmunoadyuvante.**

El efecto inmunoadyuvante del quitosano se debe a la N-acetilglucosamina (NAGA). Gracias a la unión NAGA a receptores específicos de la membrana celular se realiza la activación de macrófagos. También, se expuso que la quitina es un fuerte adyuvante Th1, es cual regula la inmunidad.

Las investigaciones también demuestran la quitina disminuye la resistencia alérgica a los dermatofagoides *pteronyssinus* y *aspergillus fumigatus*, además se demostró que la quitina deprime las respuestas alérgicas tipo 2 haciendo de ella un tratamiento efectivo contra el asma y también sirve para su prevención.

Además, algunos autores describen que el quitosano ha mejorado la producción de interferones tipo 1, ya que, el quitosano influye en la activación de células dendríticas como el sensor de ADN citoplasmático, cGas y STING. Esto lo notaron después de la vacunación, cuando lo usaron como adyuvante (22).

- **Aplicación de quitosano en odontología.**

**a. En periodoncia.**

El quitosano se puede utilizar para regeneración ósea. El quitosano se usa en forma de membrana, para que esta membrana funcione debe cumplir ciertas propiedades como mecánicas, químicas y degradación controlada. Lo que permitirá a esta membrana estar el tiempo suficiente en el área afectada para obtener una regeneración de tejidos.

También se investigó sobre la aplicación del quitosano en defectos óseos, ocasionados por extracciones dentales o cuando se realizan apicectomias, y se visualizó por radiografías y también con biopsias, que gracias a la aplicación de quitosano aumento la formación de hueso normal. Aunque esta información fueron de observación a estudios no controlados (23).

**b. En cirugía oral.**

Una de las cirugías orales que se practica, es la cirugía periapical y donde se suele usar agentes hemostáticos, pueden ser fabricado a base de quitosano, la utilidad de este agente es interesante ya que es un biomaterial muy compatible y eficiente. El quitosano realiza formación de coágulos cuando está en contacto con la sangre. Los coágulos que formará el quitosano será voluminosos y compactos, es por esto que se considera un gran agente hemostático. El agente hemostático HemCon, está elaborado de quitosano, este agente a sido investigado y se observaron buenos resultados hasta en pacientes que toman anticoagulantes (24).

**c. En regeneración ósea.**

Se realizó una investigación donde comparaba el uso de una membrana normal y una membrana con quitosano después de una extracción en la zona retro molar, para regeneración ósea, después de 8 días los resultados fueron, que en el área no tratada el tejido suturado se había abierto y además se observaba empaquetamiento. Mientras que en el lado tratado presentaba una inflamación menor, pero presentaba eritema, además tenía mejor cicatrización y baja acumulación de placa bacteriana. Después de un mes, se volvió a revisar las zonas y lo que se encontró fue que el lado tratado, tenía óptimos signo de cicatrización , mientras que el lado no tratado se observó bordes irregulares además de acumulación de placa bacteriana (25).

### 3.2. Análisis de antecedentes investigativos.

#### 3.2.1. TITULO: “ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE SOLUCIONES ACIDAS DE QUITOSANO OBTENIDO DE EXOESQUELETO DE CAMARÓN”

**AUTORES:** Alexander Pérez Cordero, Johanna Rojas Sierra, Johana Rodriguez, Ruiz, Irma Arrieta Alvarez, Yenis Arrieta Alvarez y Andres Rodríguez Carrascal.

#### **RESUMEN:**

El trabajo tuvo como objetivo evaluar la actividad antibacteriana in vitro de soluciones ácidas de quitosano obtenido a partir del exoesqueleto de camarón, sobre siete bacterias patógenas, cinco de las cuales corresponden a patógenas de humanos (*Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* UDS, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella oxytoca* ATCC 43863 y *K. oxytoca* ATCC 43086) y las fitopatógenas (*Pectobacterium* sp UDS y *Burkholderia glumae* 320012-CIAT). Concentraciones de soluciones de quitosano de 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 y 3.5 % (v/v) disueltas en ácido acético de 1.0, 1.5, 2.0 % (v/v) fueron preparadas; a partir de estas concentraciones, mediante la técnica de Kirby-Bauer se evaluó la actividad antibacteriana in vitro. Los resultados de actividad antimicrobiana mostraron diferencias altamente significativas entre la especie de bacteria y los tratamientos de quitosano. Las bacterias *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. oxytoca* (ATCC 43086 y ATCC 43863) fueron las más susceptibles a los tratamientos, mientras que *E. faecalis*, *Pectobacterium* sp y *B. glumae* mostraron resistencia. Los tratamientos T3, T4, T5, T7, T8, T9 en donde las concentraciones de quitosano estuvieron por encima a las del ácido acético, se presentaron mayores valores medios de actividad de antimicrobiana en mm y aumentó este valor para los tratamientos T9 (5.8095 mm), T8 (6.00 mm) para y T9 (5.8095 mm), donde las concentraciones de quitosano de 2.5 y 3.5%, disueltas en ácido acético fueron igual a 2%. Los resultados de este estudio en el Caribe Colombiano permitirán a futuro el reaprovechamiento del exoesqueleto de camarón como fuente de quitosano

como un compuesto potencial frente al manejo al problema de salud pública ocasionada por las enfermedades bacterianas (26).

### 3.2.2. TITULO: “USO DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA Y EL CHITOSÁN EN ENDODONCIA”.

**AUTORES:** Dr. Encarnación Julián Belmonte

#### **RESUMEN:**

Existen diferentes sustancias antimicrobianas empleadas en odontología como fuente de eliminación de ciertos microorganismos especialmente *Enterococcus faecalis*, microorganismo muy resistente en infecciones de conducto radicular. El objetivo de nuestro estudio ha sido evaluar la eficacia antibacteriana de la terapia fotodinámica (TFD) y el chitosán, contra el *E. faecalis* y estudiar el posible efecto potenciador del chitosán sobre el FS azul de metileno en dientes humanos extraídos experimentalmente infectados, tratados con TFD. Para ello se tomaron 102 dientes unirradiculares humanos, que se dividieron en seis grupos de 17 muestras cada uno. Se les realizó un tratamiento endodóntico, y posteriormente se les inoculó *E. faecalis* en el interior de los conductos radiculares a todos los grupos de estudio y tras 48h de incubación se aplicaron las diferentes terapias (hipoclorito sódico al 2.5%, TFD, chitosán y TFD+chitosán) a su grupo correspondiente. Mediante este proceso se realizó la cuantificación de UFC/ml. Tras esto fueron deshidratados con etanol a diferentes concentraciones y cortados con un disco metálico de forma longitudinal y fijados para su posterior observación con el microscopio electrónico de barrido (MEB) cuyas imágenes obtenidas se analizaron con el sistema MIP4, para posteriormente ser analizadas y determinar el porcentaje de contaminación de cada uno de los tercios radiculares. Los resultados pusieron de manifiesto una gran reducción en los niveles de *E. faecalis* de los conductos radiculares en los cuatro grupos que recibieron el tratamiento antibacteriano, respecto al grupo control, pero sin diferencias significativas entre los grupos de estudio. El azul de toluidina como agente

fotosensibilizante junto con la terapia fotodinámica presentan acción antibacteriana. Los resultados de nuestro estudio coinciden con la literatura con respecto al poder desinfectante de la terapia fotodinámica frente el *E. faecalis*. Como conclusión destacar que la mayor reducción de UFC/ml se obtuvo al combinar la TFD con chitosán por lo que el chitosán puede ser un polisacárido natural con efecto potenciador del fotosensibilizador azul de metileno en el tratamiento endodóntico de TFD contra *E. faecalis*. Además la combinación de TFD + chitosán produce una mayor reducción sobre la contaminación bacteriana y el barrillo dentinario en los canales radiculares de dientes humanos previamente infectados con *E. faecalis*, siendo más efectivo que el uso individualizado de TFD o chitosán, e incluso que la aplicación del irrigador más frecuentemente utilizado en endodoncia como es el hipoclorito sódico al 2,5%.

#### **CONCLUSIONES:**

- Al analizar el efecto del NaOCL, la terapia fotodinámica (TFD) y el chitosán por separado y la combinación de TFD mas chitosan sobre las UFC de *E. faecalis* en canales radiculares de dientes humanos previamente infectados, observamos que la mayor reducción de UFC se obtuvo al combinar la TFD con chitosan por lo que el chitosan puede ser un posacarido natural con efecto potenciador del FS azul de metileno en el tratamiento endodontico de TFD contra *E. faecalis*.
- La combinación de TFD mas chitosan produce una mayor reducción sobre la contaminación bacteriana y barrillo dentinario en los canales radiculares de dientes humanos previamente infectados con *E. faecalis*, siendo más efectivo que el uso individualizado de TFD o chitosan, e incluso que la aplicación del irrigador “gold satndard” NaOCL al 2.5% (27).

#### **3.2.3. TITULO: “ACITIVIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DEL CHITOSAN/PROPÓLEO EN GEL SOBRE EL ENTEROCOCCUS FAECALIS”.**

**AUTORA:** Od. GREYTER LUACES ACOSTA

**RESUMEN:**

Objetivo fue comparar la eficacia antibacteriana del quitosano/propóleo en gel, con la del hidróxido de calcio (Calcifar-P), la clorhexidina en gel al 2%, el extracto de propóleo al 30% y el gel de quitosano sobre el *Enterococcus faecalis*.

Se realizó un estudio comparativo in vitro transversal, utilizando la difusión en agar con el método de Kirby – Bauer. La muestra fue de 14 repeticiones por grupo y se calculó mediante el programa Fistera. Los halos inhibitorios fueron medidos en milímetros después de 24 horas de incubación, a una temperatura de 37°C, los resultados obtenidos se procesaron por medio de las pruebas estadísticas de Shapiro-Wilk, Kruskal-Wallis y Kolmogorov-Smirnov.

La media del halo inhibitorio del gel de quitosano/propóleo fue de 22,36 mm, la del Calcifar-P fue de 13,93 mm, en el caso de la clorhexidina en gel al 2% 15,86 mm, el gel de quitosano tuvo una media de halo inhibitorio de 17,71 mm, el extracto de propóleo al 30 % tuvo la menor media con un valor de 11,36 mm. Ninguno de los anteriores valores superó el control positivo cuya media fue de 34,86 mm.

En este estudio se llegó a la conclusión que el quitosano/propóleo en gel tiene mejor eficacia antimicrobiana comparada con el hidróxido de calcio (Calcifar-P), la clorhexidina en gel al 2%, el extracto de propóleo al 30% y el gel de quitosano (28).

**3.2.4. TITULO: “ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE HIDROXIDO DE CALCIO COMBINADO CON SOLUCIONES DE QUITOSANO DANDO RESULTADOS DEL VINCULO DE FUERZA DEL SELLADOR REAL SEAL EN DENTINA RADICULAR”.**

**AUTORES:** Shaymaa Elsayed Elsakaa , Amr Mohamed Elnaghyb

La propuesta de este estudio fue investigar la actividad antibacteriana de hidróxido de calcio en combinación con solución de quitosano sobre canales dentales infectados con *Enterococcus faecalis* , y el efecto de este nuevo medicamento intracanal en la fuera del Real Seal en canales radiculares. Los canales dentarios de las piezas estudiadas fueron medicadas por la

combinación de quitosano 25%, 50%, and 100%, W/V) e hidróxido de calcio. La actividad antibacteriana fue evaluada y numero de colonias formadoras determinadas. La habilidad de adherencia del sellador de RealSeal con los conductos radiculares fue evaluada usando con un test push – out bond strength. Los datos fueron analizados utilizando la prueba de análisis de varianza y el test de comparación múltiple de Tukey. Encontramos que  $\text{Ca(OH)}_2$  combinado con diferentes concentraciones de solución de quitosano mostraron una mejor actividad antibacterial que  $\text{Ca(OH)}_2$  mezclado con suero fisiológico, sin afectar significativamente la fuerza del sellador, el valor de la prueba de realizo con un rango de error de 5%. Los resultados encontrados muestran que el  $\text{Ca(OH)}_2$  con combinación de quitosano es un medicamento intracanal prometedor y talvez efectivo para realizar endodoncias (29).

#### 4. HIPOTESIS.

Dado los antecedentes se demostró que el Quitosano tiene propiedades bactericidas sobre el *Enterococcus Faecalis*, es probable que tenga similar o mayor eficacia que el hidróxido de calcio en el *Enterococcus faecalis*.



# **CAPITULO II**

## **PLANEAMIENTO OPERACIONAL**

## 1. TÉCNICAS, INSTRUMENTO Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN.

### 1.1. Técnica.

#### 1.1.1. Especificación.

La técnica utilizada fue observacional – experimental.

#### 1.1.2. Esquemmatización.

Relación entre variable de estudio y la técnica usada en el cuadro siguiente.

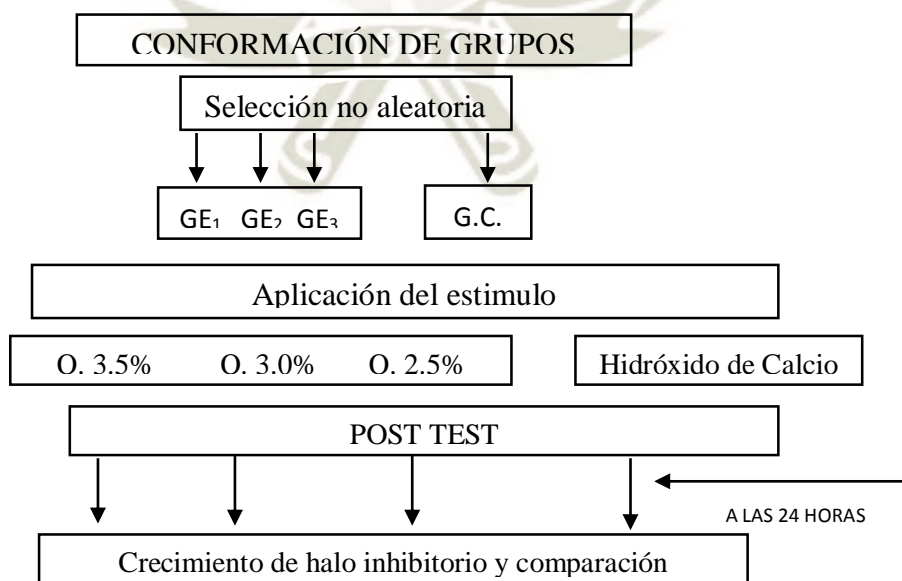
Variable investigativa	Indicadores	Procedimiento	Sub Técnica	Técnica
Efectividad de quitosano e hidróxido de calcio	Halo inhibitorio	Medición en milímetro	Técnica Kirby – Bauer	Observacional experimental

#### 1.1.3. Diseño investigativo.

##### 1.1.3.1. Esquema básico.

GE <sub>1</sub>	O <sub>1</sub>	Q. 3.5%	O <sub>2</sub>
GE <sub>2</sub>	O <sub>1</sub>	Q. 3.0%	O <sub>2</sub>
GE <sub>3</sub>	O <sub>1</sub>	Q. 2.5%	O <sub>2</sub>
GC	O <sub>1</sub>	H. C. 0.2%	O <sub>2</sub>

##### 1.1.3.2. Diagramación Operativa.



### 1.1.3.3.Descripción de la técnica.

El método Kirby – Bauer, es un método estandarizado por A. W. Bauer, W. M. M. Kirby, J. C. Sherris y M. Turck, el cual está basado en la medición de la zona donde no hubo creciendo de cepas bacterianas, la zona alrededor del disco con el agente que se quiere ser estudiado (30).

## 1.2.Instrumento.

### 1.2.1. Instrumento documental.

#### 1.2.1.1.Especificación.

Se utilizó de instrumento una ficha laboratorial que es parte de la técnica Kirby – Bauer para la recolección de datos, en la cual se registrarán los milímetros de los halos de las soluciones de hidróxido de calcio al 0.2% y de quitosano en distintas concentraciones 2.5% 3.0% y 3.5% a las 24 horas.

#### 1.2.1.2.Estructura.

Variables	Indicadores	Subindicadores	Medición
Crecimiento bacteriano de <i>Enterococcus Faecalis</i> .	Diámetro de Halo inhibitorio	Nulo (sensible) Media (intermedia) Presente (resistente)	24 horas

## 1.3.Materiales.

### 1.3.1. Medios y reactivos.

- Cápsulas de quitosano puro
- Hidróxido de calcio en polvo
- Ácido acético
- Agua destilada
- Cepa de *Enterococcus faecalis*
- Caldo BHI
- Agar Kf
- Agar Mueller Hinton

### 1.3.2. Equipos de laboratorio.

- Autoclave
- Balanza eléctrica
- Cocina eléctrica
- Incubadora
- Estufa
- Refrigeradora
- Mechero de Bunsen

### 1.3.3. Instrumentos de laboratorio.

- Pipetas
- Gradillas
- Tubos de ensayo
- Placas Petri
- Varilla de vidrio
- Asa de Digralsky
- Frascos de vidrio
- Matraz
- Pipeta Eppendorf
- Tubos Eppendorf
- Soporte Eppendorf
- Disco de papel filtro

### 1.3.4. Materiales de escritorio.

- Cámara fotográfica
- Marcadores indelebles
- Regla milimetrada
- Cinta masking tape
- Papel craft
- Lapicero

### 1.3.5. Material documental.

- Ficha laboratorial

### 1.3.6. Otros.

- Algodón
- Alcohol
- Guantes
- Barbijo
- Lejía
- Campos
- Papel toalla
- Gorra

## 2. CAMPO DE VERIFICACIÓN.

### 2.1. Ubicación espacial.

La presente investigación tiene como:

Ámbito general: Universidad Católica de Santa María

Ámbito específico: Laboratorios de microbiología H – 403

### 2.2. Ubicación temporal.

La investigación se realizó en 2019, esta tiene una visión temporal prospectiva, ya que se recogerán datos a medida que se realice la investigación, también es de corte longitudinal por las carias etapas de observación y control.

### 2.3. Unidades de estudio.

Existirán cuatro grupos de estudio; el primero fue una solución de hidróxido de calcio al 0.2%, la segunda, tercera y cuarta fue el quitosano en distintas concentraciones (2.5%, 3.0% y 3.5%).

- a. Criterios para igualar grupos
  - Igualación cualitativa
    - Criterios de inclusión: cepa de *Enterococcus faecalis*
    - Criterios de exclusión: cepa contaminada de *Enterococcus faecalis*
  - Tamaño de grupos: se determinó, el tamaño mínimo muestral mediante antecedentes investigativos.

### 3. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN

#### 3.1. Organización.

Antes de hacer el estudio de comparación:

- Presentar la solicitud de autorización para el uso de laboratorios en la Universidad Católica de Santa María
- Realizar la compra de los materiales necesarios
- Hacer la preparación de las unidades de estudios
- Realizar prueba piloto
- Si se observa un resultado positivo en la prueba piloto, realizar los ensayos definitivo para el estudio.

#### 3.2. Recursos

- **Humanos.**
  - Investigador: Deyna Ysela Morales Jiménez
  - Asesor: Dr. Alberto Figueroa Banda
- **Físicos.**
  - Laboratorio de la Universidad Católica de Santa María
- **Económicos.**
  - Financiado por la investigadora
- **Institucionales.**
  - Universidad Católica de Santa María

#### 4. ESTRATEGIA PARA MANEJAR DATOS

##### 4.1. Plan de procesamiento de los datos

###### 4.1.1. Tipo de procesamiento.

El procesamiento será de tipo manual y computarizado a través del programa de Excel 2016 con la “prueba t de student”.

###### 4.1.2. Plan de operaciones.

###### 4.1.2.1. Plan de clasificación.

La información obtenida fue ordenada en una matriz de registro y control.

###### 4.1.2.2. Plan de codificación.

Se utilizó de acuerdo a las variables e indicadores.

###### 4.1.2.3. Plan de recuento.

Usando matrices de conteo y el esquema tabulación.

###### 4.1.2.4. Plan de tabulación.

Se elaboró tablas de tipo numérico, de simple y doble entrada.

###### 4.1.2.5. Plan de graficación.

Dependiendo de los resultados optaremos probablemente por las gráficas.

##### 4.2. Plan de análisis de los datos

###### 4.2.1. Tipo: Cuantitativo multifactorial univariado

###### 4.2.2. Tratamiento estadístico

Variable	Tipo estadística	Estadística descriptiva	Estadística inferencial
Actividad bactericida	Cuantitativa continua	Medidas de tendencia central y dispersión	T de Student

## 5. METODOLOGÍA

### 5.1. Clasificación de grupos de estudio.

Los grupos que se estudiaron fueron cuatro, de los cuales tres fueron tratamientos de quitosano en diferentes porcentajes (2.5%, 3.0% y 3.5%), que eran los grupos de estudio y el tratamiento de hidróxido de calcio al 2.0%, el cual es el grupo control.

### 5.2. Esterilización.

Esterilización de los instrumentos de laboratorio a utilizar.

### 5.3. Preparación de soluciones.

Para la elaboración de las soluciones de quitosano, primero se realizó una solución de ácido acético al 2.0% por triplicado para las tres soluciones, luego se pesó 2.5, 3 y 3.5 gramos del polvo de quitosano adquirido de una distribuidora de productos químicos, los cuales fueron disueltos en las soluciones de ácido acético al 2.0%.

Para la preparación de la solución de hidróxido de calcio al 0.2% se siguió las instrucciones del fabricante, las cuales eran, verter el frasco de hidróxido de calcio en 100 ml de agua destilada luego mezclar, esperar que se asiente el polvo y utilizar solo la solución superficial.

### 5.4. Obtención de cepa.

Se adquirió una cepa de *Enterococcus faecalis* certificada de los laboratorios GemLab Perú.

### 5.5. Activación de cepa.

La cepa se activó con dos mililitros de caldo BHI en el mismo tubo, posteriormente se realizó la siembra en agar Kf, el cual es un medio selectivo para esta bacteria.

### 5.6. Preparación de medios de cultivo.

Para la realización del antibiograma se preparó placas con agar mueller hinton, siguiendo las instrucciones del envase, se realizó una regla de tres simple para

calcular los gramos que se utilizan para 100 mililitros de agua destilada.

Se utilizó una estufa para calentar la solución y obtener una mezcla homogénea, para luego ponerla en autoclave durante 15 minutos a 121 C° y 15 psi de presión. Después se vertió 25 ml del agar en las placas Petri y se esperó a que gelifique.

### **5.7. Preparación de inóculo.**

Después de 24 hora de incubación de *Enterococcus faecalis* en el agar Kf, se comprobó el crecimiento de las cepas.

En un tubo de ensayo estéril con caldo nutritivo se colocó colonias de *Enterococcus faecalis* y finalmente se obtuvo una turbidez de 0.6 en la escala de Mc Farland.

### **5.8. Estandarización de inóculo.**

Se extrajo con una micropipeta una alícuota, que se depositó en una celda de vidrio la cual fue medida en el espectrofotómetro, cotejado con la lectura de a escala de Mc Farland, 0.6..

### **5.9. Inoculación de placas.**

Se llevó la cantidad de 0.1ml a la placa con agar mueller hinton con una pipeta Eppendorf, después se realizó movimientos en sentido horario, anti horario, vertical y horizontal con el asa de digralsky de manera que el inóculo quede esparcido uniformemente.

### **5.10. Realización del antibiograma.**

Con una micropipeta se colocó 10 ul en cada disco de papel filtro con las soluciones anteriormente elaboradas (quitosano 2.5%, 3.0%, 3.5% y Ca(OH) al 0.2%). Las placas Petri fueron divididas en 4 partes, en cada una de estas hubo un disco con agente diferente.

Cuando se tuvieron listas las placas, se llevaron a la estufa para su incubación por 24 horas, se colocaron invertidas para asegurar su reproducción y crecimientos de cepas.

### 5.11. Recolección de datos.

Luego de la incubación se realizó la medición de los halos de inhibición con una regla milimetrada, esta medición se realizó del lado donde se observaba el agar. Luego se recolecto los datos para su análisis estadístico e interpretación del mismo.





## **CAPITULO III**

## **RESULTADOS**

**TABLA 1. Eficacia del quitosano al 3.5% sobre *Enterococcus faecalis*, según la medida del halo inhibitorio en milímetros. a las 24 horas de lectura, UCSM. Arequipa – 2019**

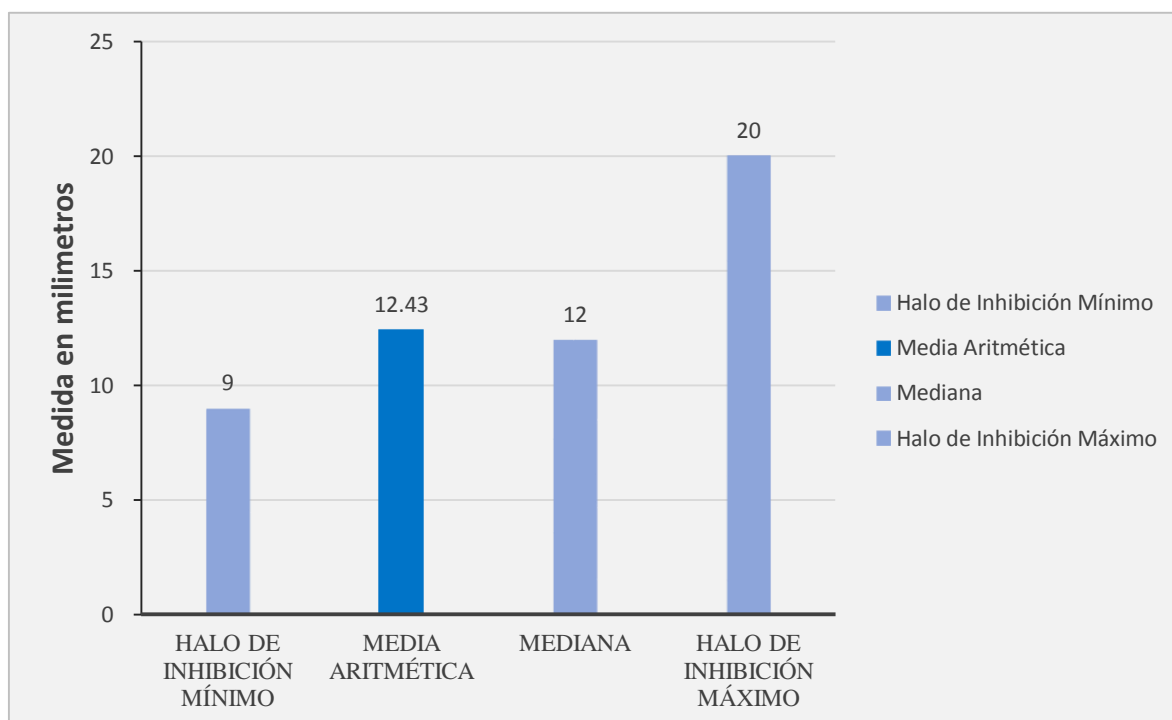
<b>QUITOSANO 3.5%</b>	<b>Valores (mm)</b>
Media Aritmética	12.43 mm
Mediana	12.00 mm
Desviación Estándar	3.58
Halo de Inhibición Mínimo	9 mm
Halo de Inhibición Máximo	20 mm
Total de muestras	14

**Fuente: Matriz de datos**

### **INTERPRETACIÓN**

En la tabla N°01 observamos que el promedio del halo de inhibición del quitosano al 3.5% fue de 12.43 mm y la mediana de 12.00 mm, ya que el valor de la mediana es cercano a la media aritmética, se puede decir que no se encontró valores extremos. Se observa que el halo de inhibición mínimo fue de 9 mm y el halo máximo de inhibición fue de 20 mm.

**GRÁFICO 1. Eficacia del quitosano al 3.5% sobre *Enterococcus faecalis* según la medida del halo inhibitorio en milímetros. a las 24 horas de lectura, UCSM. Arequipa – 2019**



**Fuente: Tabla N°01**

**TABLA 2. Eficacia del quitosano al 3.0% sobre *Enterococcus faecalis*, según la medida del halo inhibitorio en milímetros. a las 24 horas de lectura, UCSM. Arequipa – 2019**

<b>QUITOSANO 3.0%</b>	<b>Valores (mm)</b>
Media Aritmética	13.21 mm
Mediana	12.50 mm
Desviación Estándar	3.96
Halo de Inhibición Mínimo	9 mm
Halo de Inhibición Máximo	22 mm
Total de muestras	14

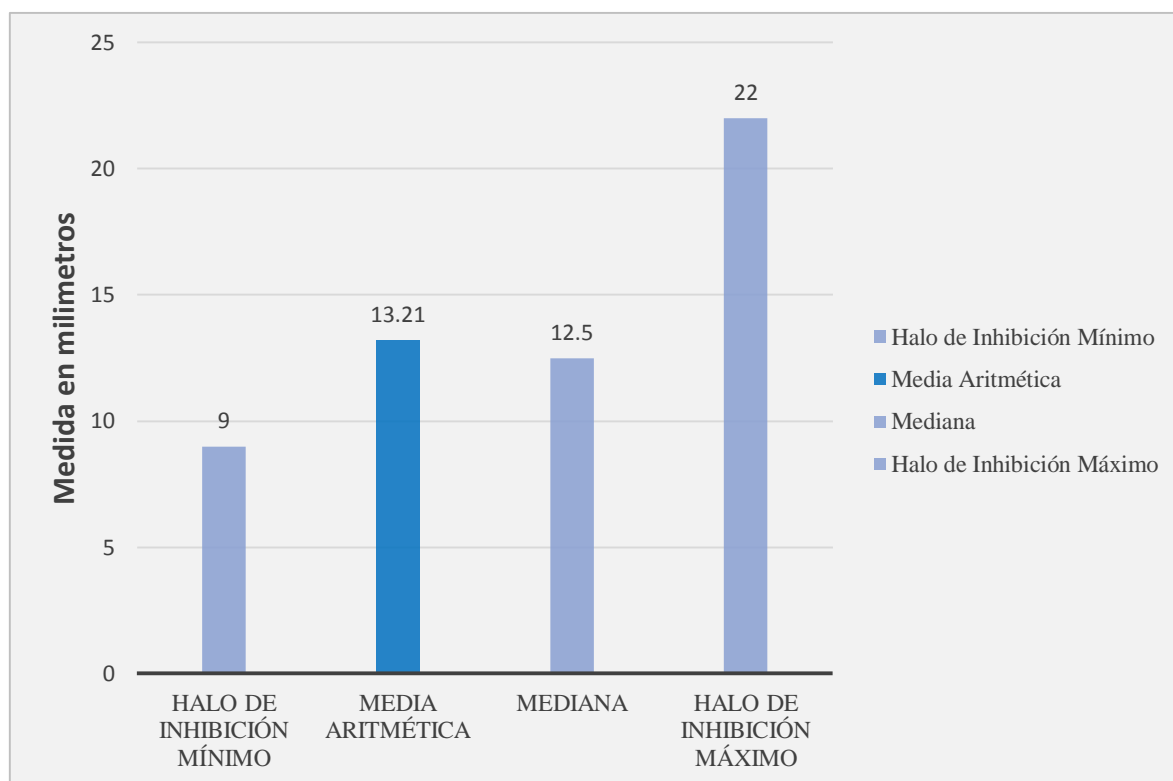
**Fuente: Matriz de datos**

### **INTERPRETACIÓN**

En la tabla N°02 podemos observar que el promedio del halo de inhibición del quitosano al 3.0% fue de 13.21 mm y la mediana fue de 12.50 mm, siendo el valor de la mediana cercano a la media aritmética, se puede decir que no se encontró valores extremos.

También se observa en la tabla que el halo de inhibición fue de 9 mm y el halo de inhibición máximo fue de 22 mm.

**GRÁFICO 2. Eficacia del quitosano al 3.0% sobre *Enterococcus faecalis*, según la medida del halo inhibitorio en milímetros. a las 24 horas de lectura, UCSM. Arequipa – 2019**



**Fuente: Tabla N°02**

**TABLA 3. Eficacia del quitosano al 2.5% sobre *Enterococcus faecalis*, según la medida del halo inhibitorio en milímetros. a las 24 horas de lectura, UCSM. Arequipa – 2019**

<b>QUITOSANO 2.5%</b>	<b>Valores (mm)</b>
Media Aritmética	12.07 mm
Mediana	11.00 mm
Desviación Estándar	4.66
Halo de Inhibición Mínimo	7 mm
Halo de Inhibición Máximo	22 mm
Total de muestras	14

**Fuente: Matriz de datos**

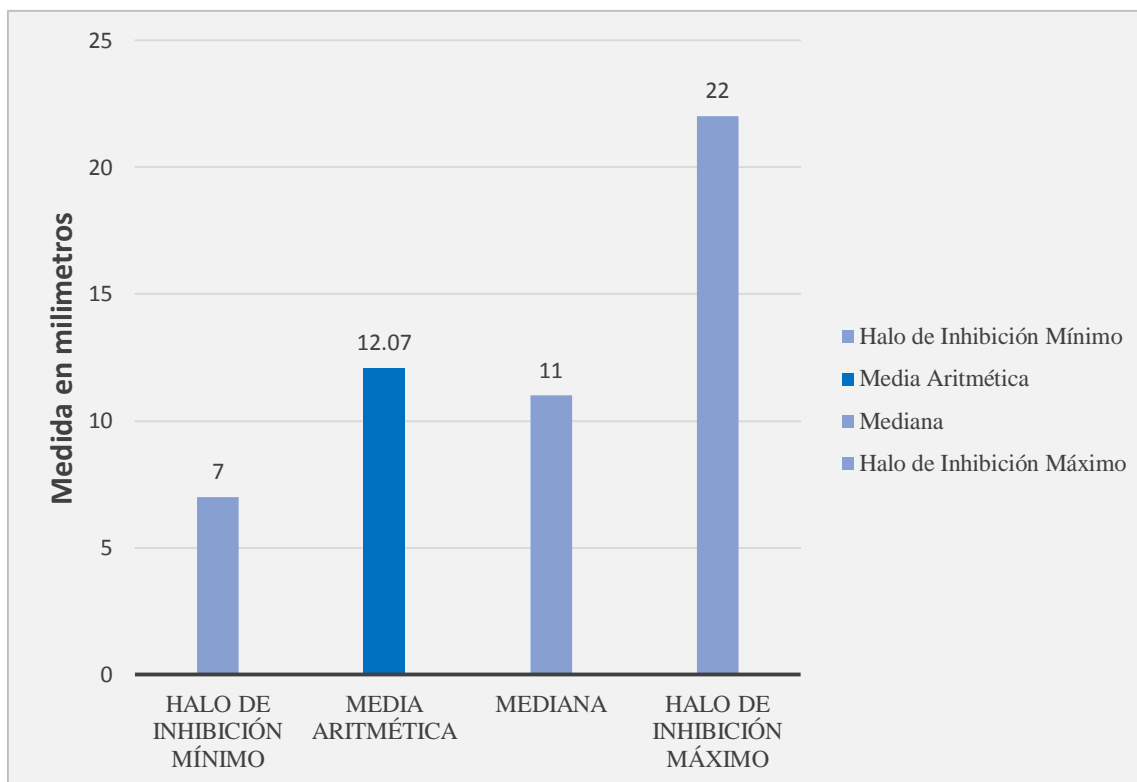
### **INTERPRETACIÓN**

En la tabla N°03 se puede observar que el promedio del halo de inhibición del quitosano al 2.5% fue de 12.07 mm y la mediana fue de 11.00 mm, siendo la mediana cercana a la media, se puede decir que no se encontró valores extremos.

También se puede observar que el halo de inhibición mínimo fue de 7 mm y el halo de inhibición máximo fue de 22 mm.

**GRÁFICO 3. Eficacia del quitosano al 2.5% sobre *Enterococcus faecalis* según la medida del halo inhibitorio en milímetros. a las 24 horas de lectura, UCSM.**

**Arequipa – 2019**



**Fuente: Tabla N°03**

**TABLA 4. Eficacia del hidróxido de calcio sobre *Enterococcus faecalis*, según la medida del halo inhibitorio en milímetros. a las 24 horas de lectura, UCSM. Arequipa – 2019**

<b>HIDRÓXIDO DE CALCIO</b>	<b>Valores (mm)</b>
Media Aritmética	9.90 mm
Mediana	10.00 mm
Desviación Estándar	1.91
Halo de Inhibición Mínimo	7 mm
Halo de Inhibición Máximo	13 mm
Total de muestras	10

**Fuente: Matriz de datos**

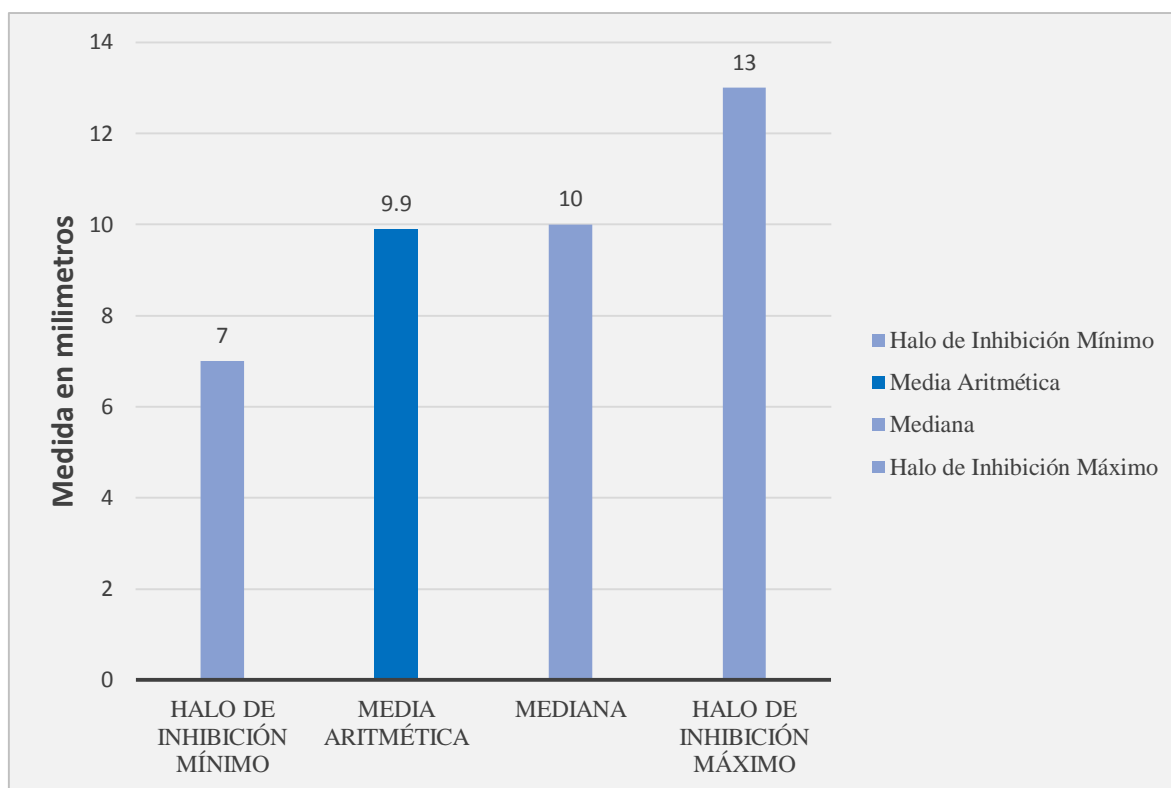
### **INTERPRETACIÓN**

En la tabla N°03 se puede observar que el promedio del halo de inhibición del hidróxido de calcio fue de 9.90 mm y la mediana fue 10.00 mm, este valor es muy cercano a la media, entonces se puede decir que no se encontró valores extremos.

Se observa también que el halo de inhibición mínimo fue de 7 mm y el halo de inhibición máximo fue de 13 mm.

**GRÁFICO 4. Eficacia del hidróxido de calcio al 0.2% sobre *Enterococcus faecalis*, según la medida del halo inhibitorio en milímetros. a las 24 horas de lectura, UCSM.**

**Arequipa – 2019**



**Fuente: Tabla N°04**

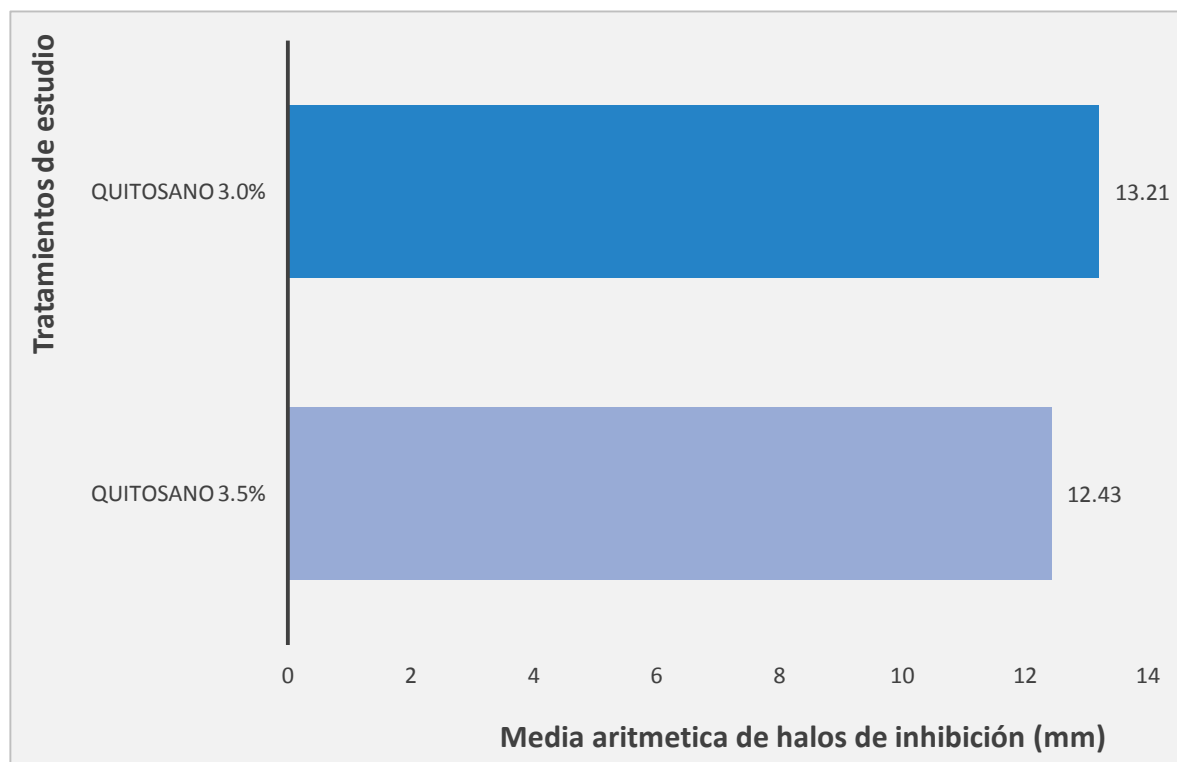
**TABLA 5. Comparación de la eficacia del quitosano al 3.5% y al 3.0% según la medida del halo inhibitorio, sobre *Enterococcus faecalis*, a las 24 horas de lectura, UCSM, según muestras observadas. Arequipa – 2019**

Halo de Inhibición	Grupo de Estudio	
	Tratamiento de quitosano 3.5%	Tratamiento de quitosano 3.0%
Media Aritmética	12.43 mm	13.21 mm
Desviación Estándar	3.58	3.96
Halo de Inhibición Mínimo	9 mm	9 mm
Halo de Inhibición Máximo	20 mm	22 mm
Total de muestras	14	14
<b>Fuente:</b> Matriz de datos		P = 0.587 (P ≥ 0.05) N.S.

### INTERPRETACIÓN

Como se puede observar en la tabla N°05 el promedio del halo de inhibición del quitosano al 3.5% sobre el *Enterococcus Faecalis* fue de 12.43 mm, que se encuentra entre 9 y 20 mm, mientras que el quitosano al 3.0% fue de un promedio de 13.21 mm, que osciló entre 9 y 22 mm. Según la prueba estadística las diferencias no son significativas, por lo tanto, se puede decir que estadísticamente su efectividad es igual.

**GRÁFICO 5. Comparación de la eficacia del quitosano al 3.0% y al 3.5% según la medida del halo inhibitorio sobre *Enterococcus faecalis*, a las 24 horas de lectura, UCSM, según muestras observadas. Arequipa – 2019**



Fuente: Tabla N°05

**TABLA 6. Comparación de la eficacia del quitosano al 3.0% y al 2.5% según la medida del halo inhibitorio sobre *Enterococcus faecalis*, a las 24 horas de lectura, UCSM, según muestras observadas. Arequipa – 2019**

Halo de Inhibición	Grupo de Estudio	
	Tratamiento de quitosano 3.0%	Tratamiento de quitosano 2.5%
Media Aritmética	13.21 mm	12.07 mm
Desviación Estándar	3.96	4.66
Halo de Inhibición Mínimo	9 mm	7 mm
Halo de Inhibición Máximo	22 mm	22 mm
Total de muestras	14	14

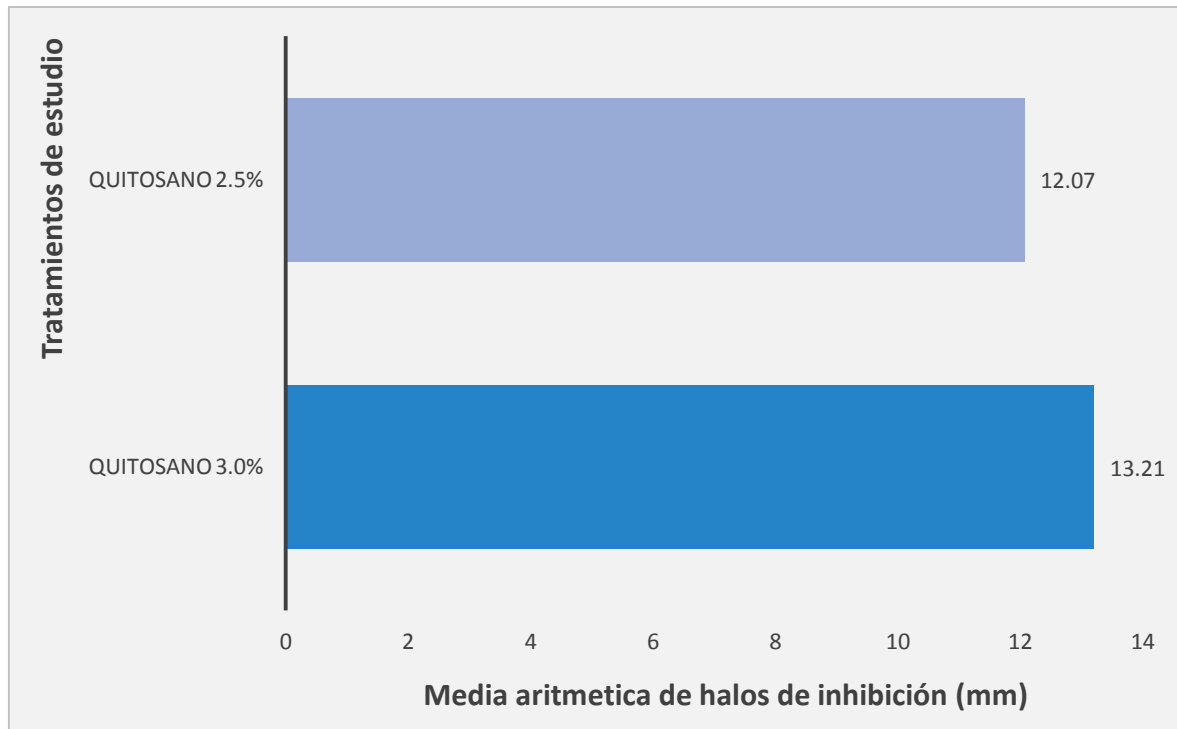
**Fuente:** Matriz de datos

$P = 0.491$  ( $P \geq 0.05$ ) N.S.

## INTERPRETACIÓN

Como se puede observar en la tabla N°06 el quitosano al 3.0% formo un halo de inhibición sobre el *Enterococcus Faecalis* de una media aritmética de 13.21 mm, que se encuentra entre 9 y 22 mm, mientras que el quitosano al 2.5% fue de un promedio de 12.07, que osciló entre 7 y 22 mm. Según la prueba estadística las diferencias no son significativas, por lo tanto, se puede decir que estadísticamente su efectividad es igual.

**GRÁFICO 6. Comparación de la eficacia del quitosano al 3.0% y al 2.5% según la medida del halo inhibitorio sobre *Enterococcus faecalis*, a las 24 horas de letura, UCSM, según muestras observadas. Arequipa – 2019**



Fuente: Tabla N°06

**TABLA 7. Comparación de la eficacia del quitosano al 3.0% y el hidróxido de calcio al 0.2% según la medida del halo inhibitorio sobre *Enterococcus faecalis*, a las 24 horas de lectura, UCSM, según muestras observadas. Arequipa – 2019**

Halo de Inhibición	Grupo de Estudio	
	Tratamiento de quitosano 3.0%	Tratamiento de hidróxido de Calcio 0.2%
Media Aritmética	13.21 mm	9.90 mm
Desviación Estándar	3.96	1.91
Halo de Inhibición Mínimo	9 mm	7 mm
Halo de Inhibición Máximo	22 mm	13 mm
Total de muestras	14	10

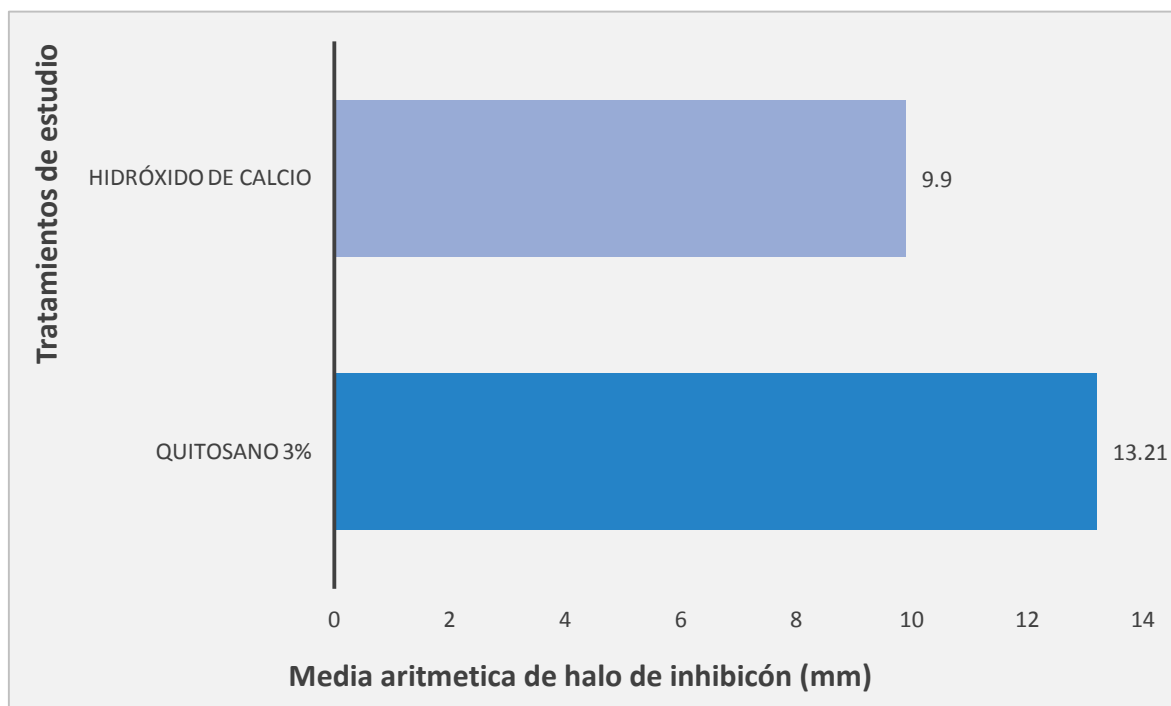
**Fuente:** Matriz de datos

P = 0.021 (P < 0.05) S.S.

## INTERPRETACIÓN

Como se observa en la tabla el quitosano al 3.0% tiene un promedio de halo de inhibición sobre el *Enterococcus Faecalis* de 13.21 mm, que se encuentra entre 9 y 22 mm, mientras que el hidroxido tuvo un promedio de 9.90 mm, que osciló entre 7 y 13 mm. Según la prueba estadística las diferencias si son significativas, por lo tanto, se puede decir que estadísticamente la efectividad del quitosano al 3.0% es mejor que el hidróxido de calcio.

**GRÁFICO 7. Comparación de la eficacia del quitosano al 3.0% y el hidróxido de calcio al 0.2% según la medida del halo inhibitorio, sobre *Enterococcus faecalis*, a las 24 horas de lectura, UCSM, según muestras observadas. Arequipa – 2019**



Fuente: Tabla N°07

## 1. DISCUSIÓN.

De acuerdo a los resultados obtenidos, el quitosano actuó eficazmente como bactericida, sin tener diferencias significativas entre los porcentajes estudiados 3.5%, 3.0% y 2.5%, disuelto en ácido acético al 2%, sin embargo, el quitosano con porcentaje al 3.0% fue el que obtuvo un halo de inhibición de mayor diámetro, seguido por el quitosano al 2.5% por último, quitosano al 3.5%.

Sin embargo, comparando el quitosano al 3.0% con la solución de hidróxido de calcio al 0.2%, se encontró diferencias significativas, pudiéndose inferir que el quitosano al 3.0% tiene una mayor eficacia que la solución de hidróxido de calcio al 0.2% y es mejor elección.

Estos resultados guardan cierta relación con los que obtuvieron los Autores: Alexander Pérez Codero, Johanna Rojas Sierra, Johana Rodríguez Ruiz, Irma Arrieta Álvarez, Yenis Arrieta Álvarez, Andrés Rodríguez Carrascal “Actividad antibacteriana de soluciones ácidas de quitosano obtenido de exoesqueleto de camarón.” (2014) donde también se demostró que el quitosano al 3.5% y al 2.5% eran los que tuvieron mejor actividad antibacteriana, esta se determinó mediante el método de difusión en disco sobre agar, realizaron la siembra de bacterias purificadas en el medio sólido según la técnica de Kirby – Bauer, los discos estériles se sumergieron por 24 horas en los diferentes tratamientos, luego se depositaron sobre la superficie del agar. Las placas fueron incubadas por 24 horas a 37°C.

Los ensayos fueron por triplicado y la evaluación fue medir los diámetros de la zona de inhibición en mm. Se usaron 9 soluciones diferentes, ácido acético 1% más quitosano 1%, ácido acético 1.5% más concentraciones de quitosano 1.5%, 2.0%, 2.5% y 3.0% y finalmente solución de ácido acético al 2.0% más quitosano 3.5%, 2.5% 3.0% y 3.5%. El trabajo realizado por el autor tiene cierta relación ya que el trabajo mencionado anteriormente también se obtuvo resultados favorables para el quitosano en porcentajes 3.0% y 2.5% pero discrepando en los halos de inhibición medidos en milímetros ya que ellos obtuvieron halos de inhibición mucho menores a los que se obtuvo en la presente investigación, esto se puede deber a que el quitosano que ellos utilizaron para su investigación fue realizado por ellos mismos, con camarones de Colombia; en cambio en el proyecto realizado se utilizó polvo de quitosano pero adquirido de laboratorios químicos peruanos y también puede deber a errores humanos al momento de realizar la técnica o insumos inadecuados como el

papel de filtro sin la porosidad adecuada, recomendando para posteriores investigaciones el uso de un papel indicado para el medicamento.

También tiene cierta coincidencia con el estudio de Encarnación Julián Belmonte, “Uso de la terapia fotodinámica y el quitosán en endodoncia.” (2017) donde se evaluó la eficacia antibacteriana de la terapia fotodinámica (TFD) y el quitosán (quitosano) sobre una sepa de *Enterococcus Faecalis*. Se realizó en piezas dentales extraídas y experimentalmente infectadas en el interior de sus conductos radiculares, 102 piezas se separaron en 4 grupos de 17 muestras aplicando hipoclorito sódico al 2.5%, TFD (terapia fotodinámica), quitosan y TDF mas quitosan. Luego se deshidrataron con etanol a diferentes concentraciones y cortados longitudinalmente para ser observados con un microscopio electrónico de barrido (MEB), después se analizó sus imágenes mediante el sistema MIP4 para determinar su porcentaje de contaminación. Los resultados del estudio fue que no hubo un beneficio significativo, aunque la combinación de TFD mas quitosan redujo más la contaminación bacteriana que los demás, demostrando su mejor eficacia que el uso separado del quitosano o de la terapia fotodinámica, hasta del irrigador hipoclorito sódico al 2.5%. sin embargo, a pesar de ser un tratamiento eficaz no tiene un beneficio mayor comparado con los otros desinfectantes. Este trabajo presenta cierta concordancia ya que si se demostró que el quitosano tenía propiedad antibacteriana, pero se utilizaron otras técnicas para evaluarlas, además, el trabajo con el que se comparó este utilizaba el quitosano como un potenciador, no como un tratamiento; resaltando finalmente que el quitosano que se utilizó en este trabajo con el que se comparó fue obtenido de laboratorios químicos españoles donde la se utilizaba 4mg/ml junto a ácido acético al 1%.

A demás el estudio realizado recientemente muestra cierta discrepancia con el estudio de la autora Gretter Luaces Acosta “actividad antimicrobiana in vitro del quitosan/propóleo en gel sobre el enterococcus faecalis” (2017) donde se quiso comparar la eficacia bactericida del quitosan/propoleo con la del hidróxido de calcio en presentación de Calcifar – P, la clorhexidina al 2% en gel, extracto de propoleo al 30% y el simple gel de quitosan, la comparación se hizo mediante el método Kirby – Bauer, el número de muestra fueron 14 replicaciones y se obtuvo como mejor resultado al quitosan mas propoleo con 22.36 mm de diámetro, seguido por el gel de

chitosan con 17.71 mm, luego la clorhexidina con 15.86 mm, hidróxido con 13.93 mm y finalmente el extracto de propoleo con 11.36 mm.

Este trabajo solo discrepa en que el diámetro de halo que se obtuvo en este estudio, este fue mayor al halo obtenido en el reciente estudio realizado, pero concuerda con que el quitosano tiene mayor eficacia que el hidróxido de calcio y un halo de mayor diámetro de inhibición. Además, cabe resaltar que no obtuvieron el halo deseado que ellos plantearon, esta discrepancia de los halos obtenidos en el trabajo de comparación se puede deber a que ellos utilizaron un gel de quitosano, elaborado con 4ml de ácido acético al 1% pero no se menciona la cantidad de polvo de quitosano utilizado.

El último trabajo con el contraste mi trabajo es el de Shaymaa Elsayed Elsakaa , Amr Mohamed Elnaghyb titulado “Actividad antibacteriana de hidroxido de calcio combinado con soluciones de quitosano dando resultados del vinculo de fuerza del sellador real seal en dentina radicular”, donde ellos utilizaron le quitosano como un potenciador para el hidróxido de calcio en piezas dentales humanas extraídas por motivos periodontales que luego fueron infectadas por *E. faecalis*. Ellos evaluaron después de 21 días los 4 grupos estudiados que fueron quitosano mas hidróxido de calcio 25%, al 50% y al 100%, hidróxido de calcio a solución fisiológica, y solo solución fisiológica que fue el grupo control; sus resultados fueron que la actividad antibacteria más eficaz fue hidróxido de calcio más quitosano al 100%. Se evaluaron mediante su recolección de dentina, luego la diluyeron en caldo de soya treptona estéril y la incubaron durante 24 horas, después realizaron diluciones con suero fisiológico desde 1/1 a 1/32 (5 veces se diluyo) después 50 ul y se en agar de treptona de soyas y se incubaron durante 24 horas, después se realizó en conteo de las unidades formadoras de colonias totales y se convirtió los valores a logaritmos base 10,

Comparo mi trabajo con este como antecedente ya que en mi trabajo obtuve resultados muy malos para le hidróxido de calcio, pero este trabajo plantea que el hidróxido de calcio puede ser potenciado con el quitosano y ser un posible buen irritante para los tratamientos de endodoncia ya que retira completamente el barro dentinario.

## 2. CONCLUSIONES.

**PRIMERA:** Se demostró que el quitosano si tiene actividad antibacteriana sobre el *Enterococcus Faecalis*, y que no hay diferencias estadística mente significativas. La solución quitosano al 2.5% tuvo un diámetro de 12.07 mm, al 3.0% tuvo un diámetro de 13.21 mm y el quitosano al 3.5% un diámetro de 12.43mm.

**SEGUNDA:** Se determinó que la solución de hidróxido de calcio al porcentaje de 0.2%, tiene una propiedad antibacteriana intermedias, presentando un halo de inhibición de 9.90 mm.

**TERCERA:** Se demostró que el quitosano al 3.0% comparando con la solución de hidróxido de calcio al 0.2%, tuvo una eficacia mayor sobre *Enterococcus faecalis*.

## 3. RECOMENDACIONES.

### **PRIMERO:**

Se sugiere seguir realizando estudios sobre el quitosano y sus propiedades, pero obteniendo su propio quitosano, con otro grado de desacetilación y de origen de exoesqueletos de camarones de rio de la ciudad de Arequipa.

### **SEGUNDO:**

Se recomienda seguir con más estudio de investigación sobre la propiedad bactericida del quitosano sobre otras especies bacterianas, porque existen estudios anteriores que reportan su poder bactericida y bacteriostático.

### **TERCERO:**

Se recomienda el uso de quitosano para el área de medicina por sus variadas propiedades, además en el área de odontología en especial por su efecto bactericida y bacteriostático sobre el *Enterococcus Faecalis*, una de las bacterias que se encuentra de forma accidental en la cavidad oral, aunque actualmente estudios demostraron que se encuentra como microbiota normal sin presentar síntomas, además se puede encontrar presente en tratamientos endodonticos ya terminados y

ocasionando posteriormente fracasos, entonces usando el quitosano como inhibidor de esta bacteria, se reduciría fracasos, en este caso endodonticos.



#### 4. BIBLIOGRAFÍA

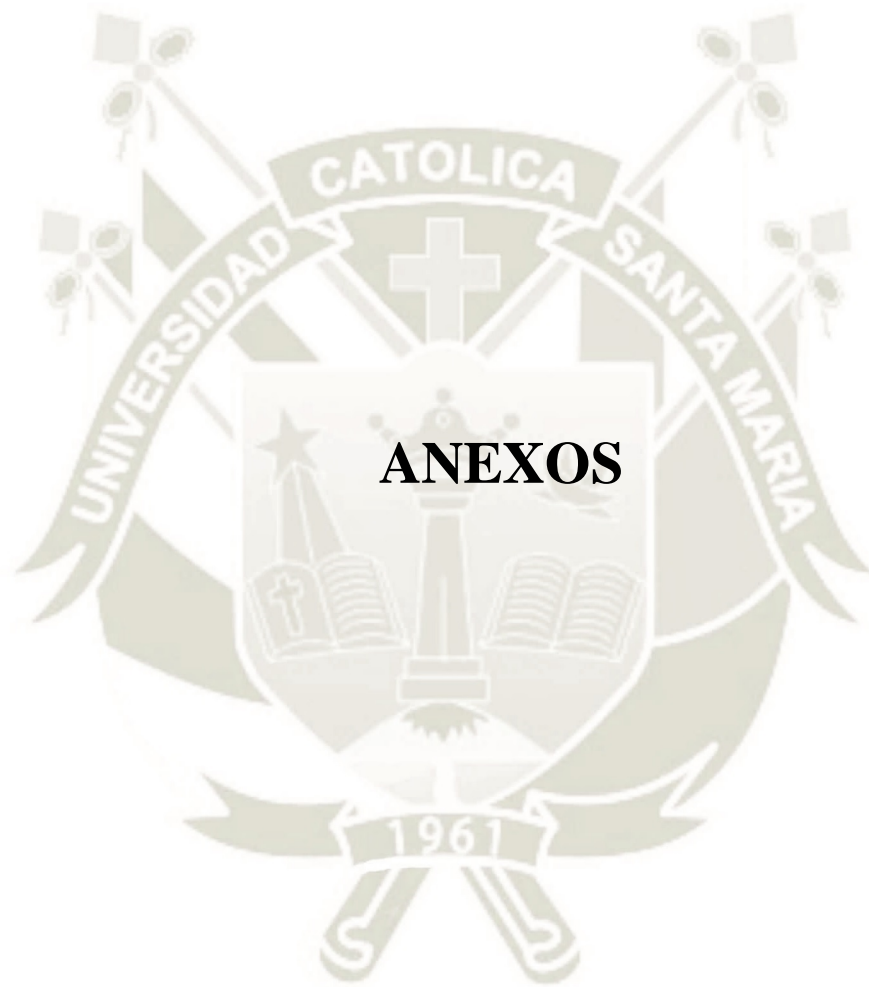
1. IMARPE. Instituto del Mar del Perú - IMARPE. [Online].; 2013 [cited 2019 Octubre. Available from:  
[http://www.imarpe.gob.pe/imarpe/index.php?id\\_seccion=I0131010202010000000000](http://www.imarpe.gob.pe/imarpe/index.php?id_seccion=I0131010202010000000000).
2. Pájaro Y, Díaz F. Remoción de cromo hexavalente de aguas contaminadas usando quitosano obtenido de exoesqueleto de camarón. *Revista Colombiana de Química*. 2012 julio - diciembre; 41(2).
3. Liébana Ureña J. *Microbiología oral*. segunda ed. Madrid: Mc GRAW - HILL - INTRAMERICANA; 2002.
4. Díaz Pérez M, Rodríguez Martínez C, Zhurbenko R. *Aspectos fundamentales sobre el género Enterococcus como patógeno de eevada importancia en la actualidad*. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*. 2010 mayo - agosto; 48(2): p. 151.
5. Sevillano E, Eraso E. OpenCourseWare de la UPV/EHU. [Online].; 2013 [cited 2019 octubre. Available from:  
[https://ocw.ehu.eus/pluginfile.php/7495/mod\\_resource/content/1/Material\\_de\\_estudio/Tema\\_3.\\_Determinantes\\_ecologicos\\_orales.pdf](https://ocw.ehu.eus/pluginfile.php/7495/mod_resource/content/1/Material_de_estudio/Tema_3._Determinantes_ecologicos_orales.pdf).
6. Pardi G, Guilarte C, Cardozo E, Briceño E. *Detección de Enterococcus faecalis en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico*. *Acta odontológica venezolana*. 2009 junio; 47(1).
7. Chinchá O, Cornelio E, Valverde V, Acevedo M. *Infecciones intrahospitalarias asociadas a dispositivos en unidades de cuidados intensivos de un hospital nacional de Lima, Perú*. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 2013 Octubre; 30(4).
8. Rodríguez Benítez S. *Gaceta Dental*. [Online].; 2009 [cited 2019. Available from:  
<https://gacetadental.com/2009/03/importancia-del-hidrxido-de-calcio-como-medicamento-intraconducto-en-endodoncia-a-proposito-de-un-caso-clnico-31678/>.
9. Yepes Delgado F, Castrillón Yepes C. *El hidroxido de calcio, como paradigma clínico, es superado por el agregado de trióxido mineral (MTA)*. *Revista Facultad de Odontología Universidad de Antioquia*. 2013 Agosto; 25(1).

- 10 Yepes Delgado F, Velez R. F. *El hidroxido de calcio en la odontología actual*.  
.Revista Facultad de Odontología Universidad de Antioquia. 1995; 7(1).
- 11 Fernández Monjes J, Maresca B. *Consideraciones sobre el uso del hidroxido de calcio  
.y el ión calcio en endodoncia*. Revista del Ateneo Argentino de Odontología. 2008  
junio - septiembre; 47(2).
- 12 Silva - Herzog F. D, Andrade Velásquez LM, Lainfiesta Rímola J. *Comparación del  
.hidroxido de calcio como medicamento intraconducto utilizando vehiculos viscosos y  
acuosos*. REVISTA de la Asociación Dental Mexicana. 2005 julio - agosto; 62(4).
- 13 Silva - Herzog F. D, Andrade Velásquez LM, Lainfiesta Rímola J. *El hidroxido de  
.calcio en la odontología actual*. REVISTA Facultad de Odontología Universidad de  
Antioquia. 1995 julio - agosto; 7(1).
- 14 Rodríguez Gutiérrez G, Alvarez Llanes M, Garía Boss J, Arias Herrera S, Más Sarabia  
.M. *El hidroxido de calcio: su uso clínico en la endodoncia actual*. Revista Archivo  
Médico de Camagüey. 2005 mayo - junio; 9(3).
- 15 Romero Méndez Y, Couto Caridad MD. *Propiedad antimicrobiana del hidroxido de  
.calcio*. Revista de la Facultad de Odontología Universidad de Carabobo. 20012; 2(1).
- 16 Alvarado M. E, López Mastinez F, Treviño Elizondo R. *Hidroxido de calcio*. Revista  
.Mexicana de Estomatología. 2017; 4(1).
- 17 Ramirez M, Rodríguez A, Alfonso L, Peniche C. *La quitina y sus derivados,  
.biopolímeros con pontecialidades de aplicación agrícola*. Revista Biotecnología  
Aplicada. 2010 diciembre; 27(4): p. 262 - 269.
- 18 Peniche C, Gallardo W, A. Elvira C, San Roman J. Quitosano: un polisacárido natural  
.biodegradable y biocompatible con aplicaciones en biomedicina. Revista de Plásticos  
Modernos. 2001; 81(535): p. 81 - 91.
- 19 Gonzáles Alonso V, Cuadra Madrid M, Usero Pérez M, Colmenar Jarillo G, Sánchez  
.Gil M. *Control de a hemorragia externa en combate*. Prehospital Emergency Care  
(Edición Española). 2009; 2(4): p. 293 - 304.

- 20 Suzuki K, Mikami T, Okawa Y, Suzuki S, Susuki M. *Antitumor effect of hexa-N-acetylchitohexaose and chitohexaose*. Carbohydrate Research. 1986; 151: p. 403 - 408.
- 21 Qin C, Du Y, Xiao L, Li Z, Gao X. *Enzymic preparation of water-soluble chitosan and their antitumor activity*. International Journal of Biological Macromolecules. 2002 diciembre; 31(1 - 3): p. 111 - 117.
- 22 Ducheyne P, Grainger D, Healy K, Hutmacher D, Kirkpatrick C. *Comprehensive biomaterials II*. primera ed. Elsevier , editor. United Kingdom; 2017.
- 23 Gómez Franco C, Padilla Rosas M, Martínez Rodríguez V, Vaca Cornejo F. *Quitosana: Alternativa terapéutica*. Revista Mexicana de Periodontología. 2013; 4(3): p. 120 - 122.
- 24 Coaguila Llerena H, Mendiola Aquino C. *Agentes hemostáticos en cirugía periapical: Revisión de literatura*. Revista Estomatológica Herediana. 2015; 25(4): p. 318 - 326.
- 25 Suárez D, García C, Yépez J, González A, Velazco G. *Regeneración osteomucosa con membrana de quitosano: reporte de un caso*. Revista Europea de Odontostomatología. 2011 abril.
- 26 Pérez Cordero A, Rojas Sierra J, Rodriguez Ruiz J, Arrieta Alvarez I, Arrieta Alvarez Y, Rodríguez Carrascal A. *Actividad bacteriana de soluciones ácidas de quitosano obtenido de exoesqueleto de camarón*. Revista Colombiana de Biotecnología. 2014; 16(1).
- 27 Julián Belmonte E. *Uso de terapia fotodinámica y el chitosán en endodoncia*. 2017..
- 28 Luaces Acosta G. *Actividad antimicrobiana in vitro del chitosan/propóleo en gel sobre el enterococcus faecalis*. 2017..
- 29 Elsayed Elsaka S, Mohamed Elnaghy A. *Antibacterial activity of calcium hydroxide combined with chitosan solutions and the outcomes on the bond strength of RealSeal selaer to radicular dentin*. Journal of Biomedical Research. 2012; 26(3).

30 Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turck M. *Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method*. The American Journal of Clinical Pathology. 1966; 36(3): p. 493.





## ANEXO N° 01

# MODELO DEL INSTRUMENTO

**FICHA DE OBSERVACIÓN MICROBIOLÓGICA**

FICHA N°: .....

N° DE PLACA: .....

MICROORGANISMO: *Enterococcus faecalis*

SOLUCIÓN	DIAMETRO DE HALO (mm)	INTERPRETACIÓN		
		Sensible	Media	Resistente
Quitosano 3.5%				
Quitosano 3.0%				
Quitosano 2.5%				
Hidroxido de calcio				

Susceptible	Intermedio	Resistente
>11 mm	7 – 10 mm	Hasta 6 mm



**ANEXO N° 02**  
**PERMISO DEL USO DE LABORATORIO**



Universidad Católica  
de Santa María

AREQUIPA-PERU

(51 54) 382038 <http://www.ucsm.edu.pe> [facebook.com/ucsm.edu.pe/](https://www.facebook.com/ucsm.edu.pe/)

### ORDEN DE USO DE LABORATORIO

UCSM-COORD.LAB N° : 041-COOR. LAB. – 2019

EXPEDIENTE : 2019000034693

MORALES JIMENEZ DEYNA YSELA

Arequipa, 2019 setiembre 16

Pase a los Asistentes de Laboratorio:

Sr. Paulo Enriquez

Se autoriza el uso del Laboratorio, ..... H. 403  
A la señorita indicada, a fin de que desarrolle su proyecto de investigación titulado  
"EFICACIA DEL QUITOSANO EN COMPARACION AL HIDROXIDO DE CALCIO  
SOBRE ENTEROCOCUS FAECALIS, AREQUIPA 2019" previa coordinación de  
horario.

Desde 19.09.2019 Hasta 19.10.2019  
Horario: Miércoles, Jueves, Viernes de 16:00 - 20:00 horas  
Sábado 07:00 - 12:00 horas

Atentamente,

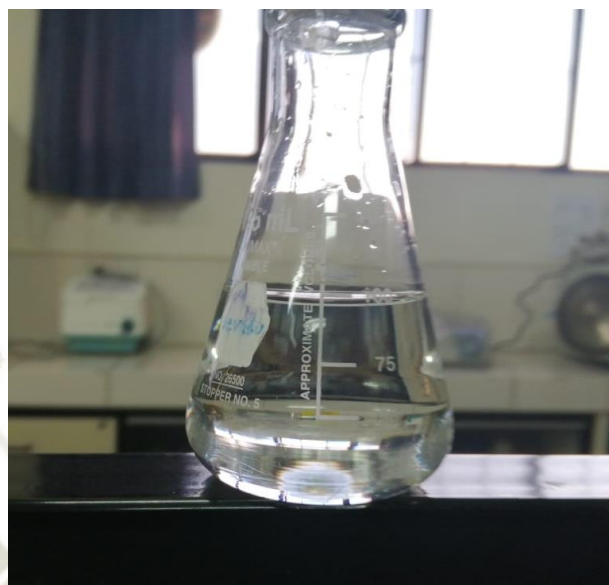
JMZS/CLyG  
Rtr

P. Gladys Valdivia C.  
Dra. JESÚS MARÍA ZAMBRANO SALAS DE CALLE  
COORDINADORA DE LABORATORIOS  
Y GABINETES  
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

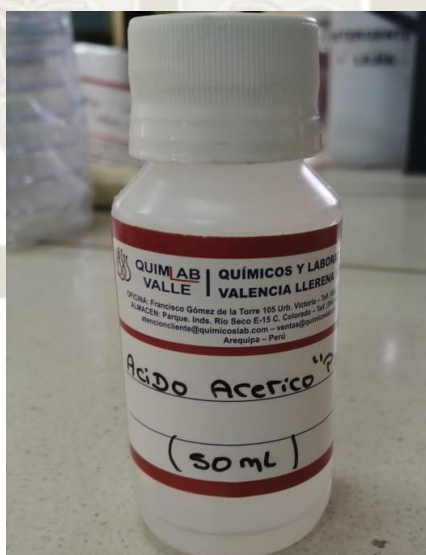


**ANEXO N° 03**  
**SECUENCIA FOTOGRAFICA**

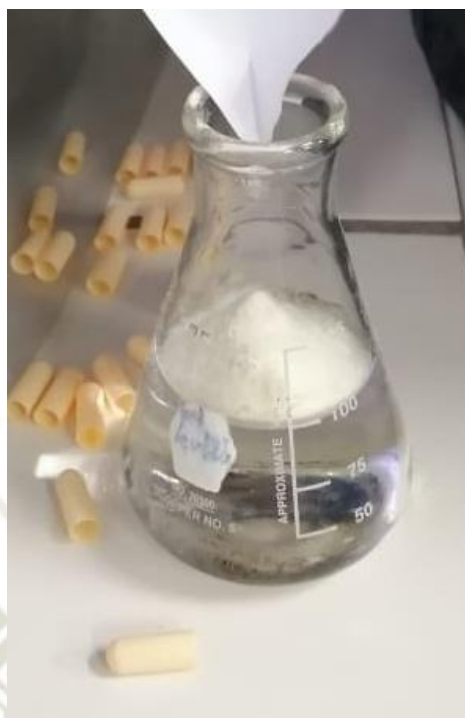
## PREPARACIÓN DE SOLUCIONES



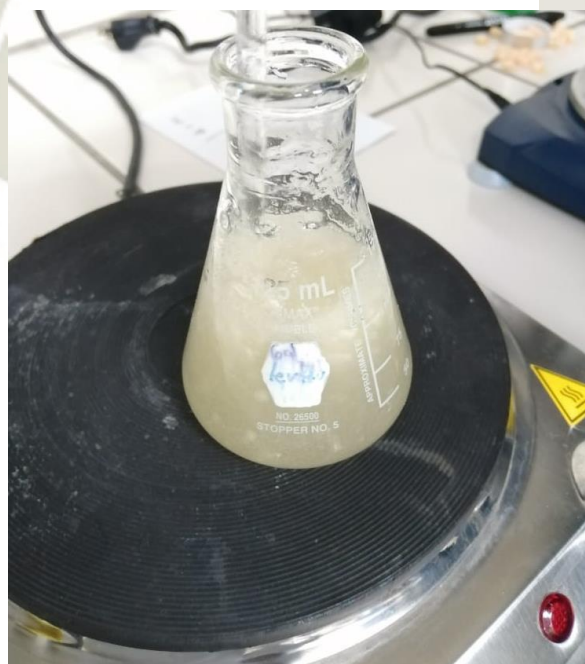
*Figure 2. La foto presente es sobre la solución de actico al 2.0%, la cual fue la primera realizada. Esta solución fue elaborada por triplicado, para posteriormente disolver el quitosano en esta.*



*Figure 1. Ácido acético químicamente puro.*



*Figure 3. Quitosano en polvo agregándose a la solución de ácido acético al 2.0%.*



*Figure 4. Como se puede observar cada solución tuvo que calentarse para que el quitosano pudiera disolverse.*



Figure 5. Soluciones de quitosano en los porcentajes que se utilizó, al 3.5%, 3.0% y 2.5%.

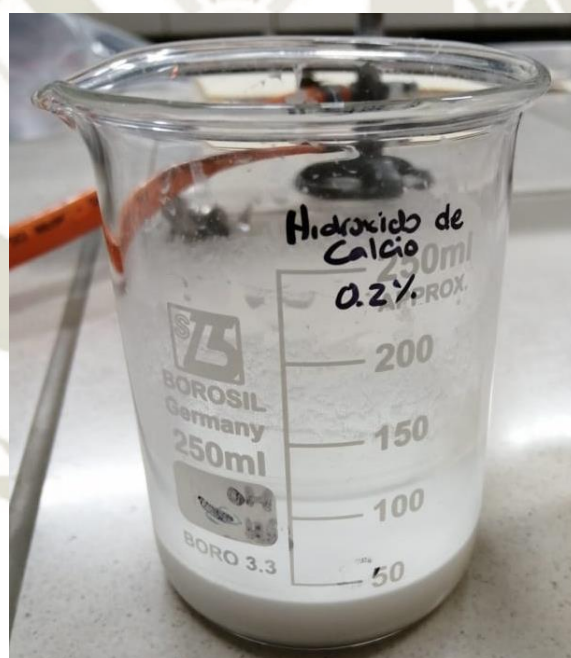
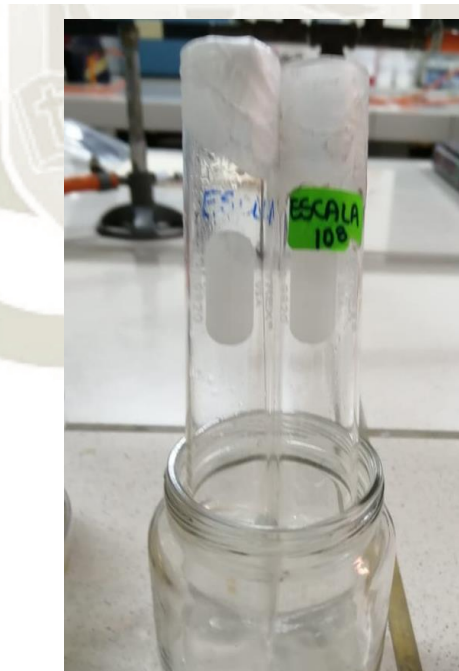


Figure 6. Solución de Hidróxido de Calcio, preparada según las indicaciones del fabricante.

## PREPARACIÓN DEL INÓCULO



*Figure 7. Activación de la sepa de *Enterococcus faecalis*, para la preparación del inóculo.*



*Figure 8. Comparación con escala de MacFarland.*



*Figure 9. Inoculo preparado.*



## DETERMINACIÓN DE SENSIBILIDAD BACTERIANA POR MEDIO DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN

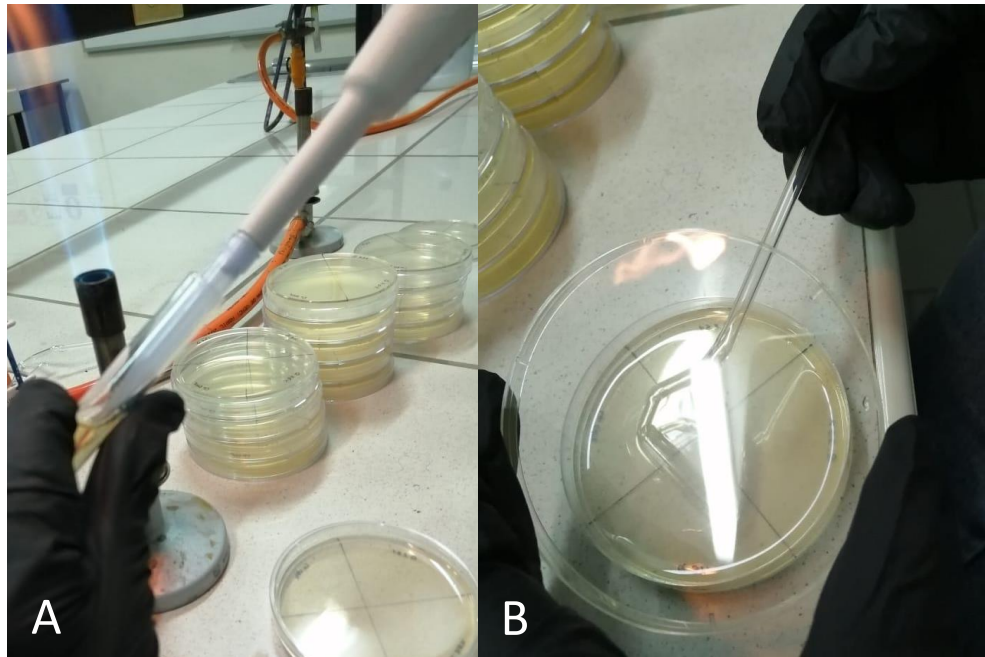


Figure 10. (A) Obtención de una alicuota. (B) Inoculación de placa mediante la técnica Kirby – Bauer.

### DIVISIÓN DE LAS PLACAS PETRI

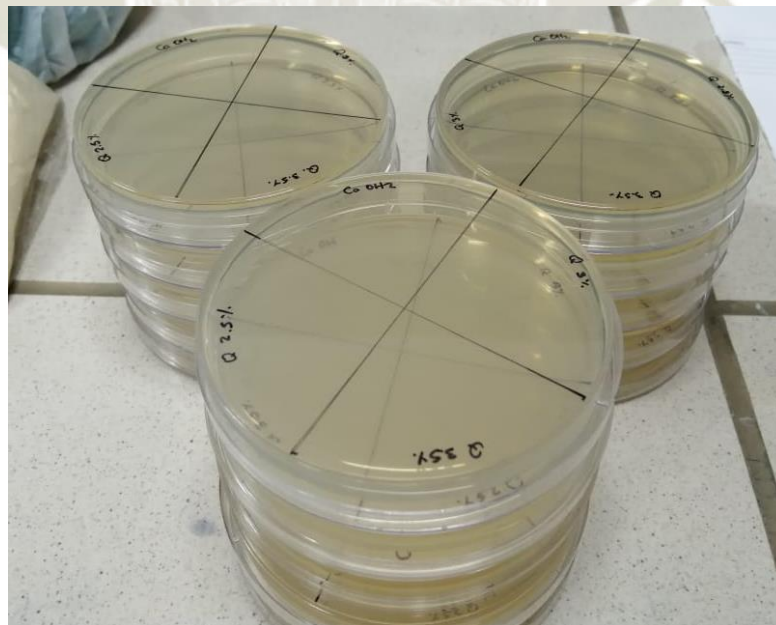
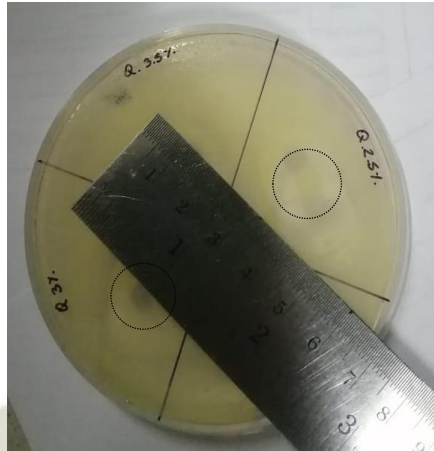
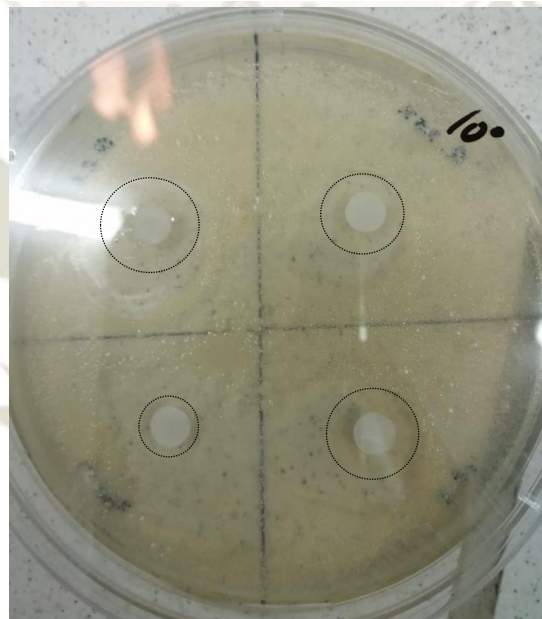


Figure 11. División de placas en 4 grupos, 3 grupos de quitosano en diferentes porcentajes 3.5%, 3.0% y 2.5%; y un grupo de solución de hidróxido de calcio al 0.2%.

## HALO DE INHIBICIÓN DE QUITOSANO Y HIDROXIDO DE CALCIO



*Figure 12. Medición del halo inhibitorio del quitosano en porcentajes de 3.5%, 3.0% y 2.5% sobre Enterococcus faecalis, después de 24 horas.*



*Figure 13. halo de inhibición de la solución de quitosano en porcentajes 2.5%, 3.0%, 3.5% y solución de hidroxido de calcio al 0.2%.*