

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Escuela de Post Grado

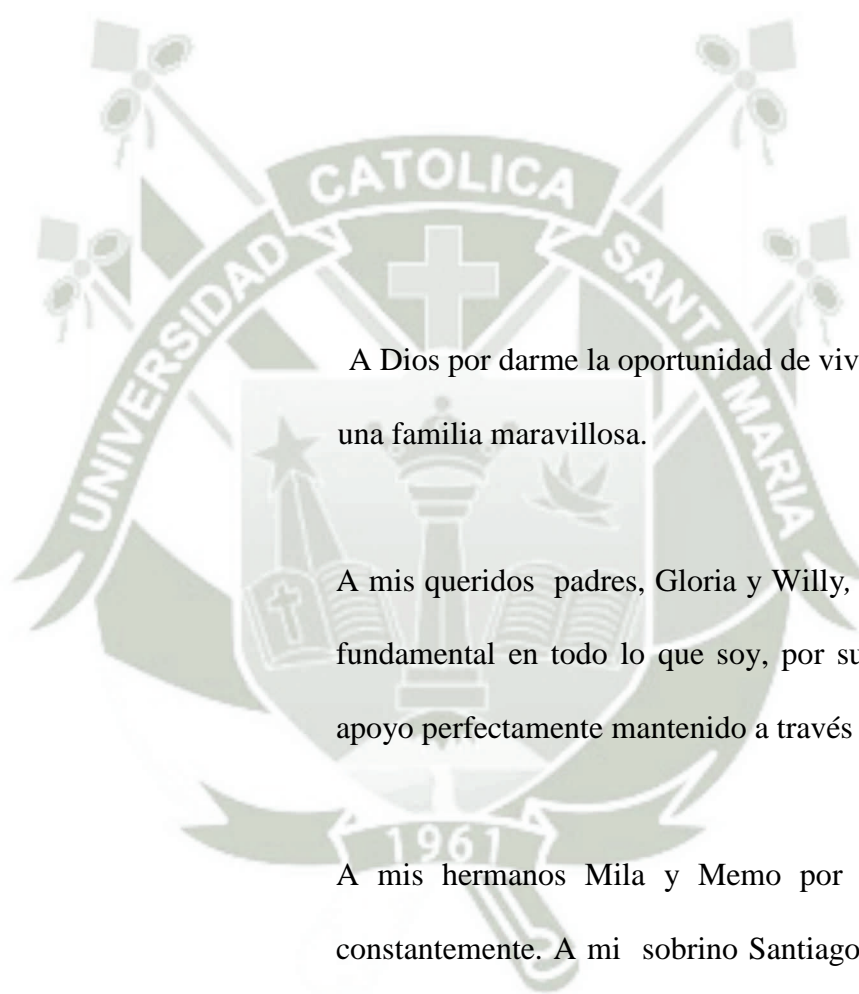
DOCTORADO EN ODONTOLOGÍA



EFECTO IN VITRO DE LA SOLUCIÓN DE CAESALPINIA ESPINOSA AL 60% EN EL HALO INHIBITORIO DE ENTEROCOCCUS FAECALIS. AREQUIPA 2012

Tesis presentada por la
Magister. **Vanessa Lissete Bornaz Arenas**
para optar el Grado Académico de
Doctora en Odontología

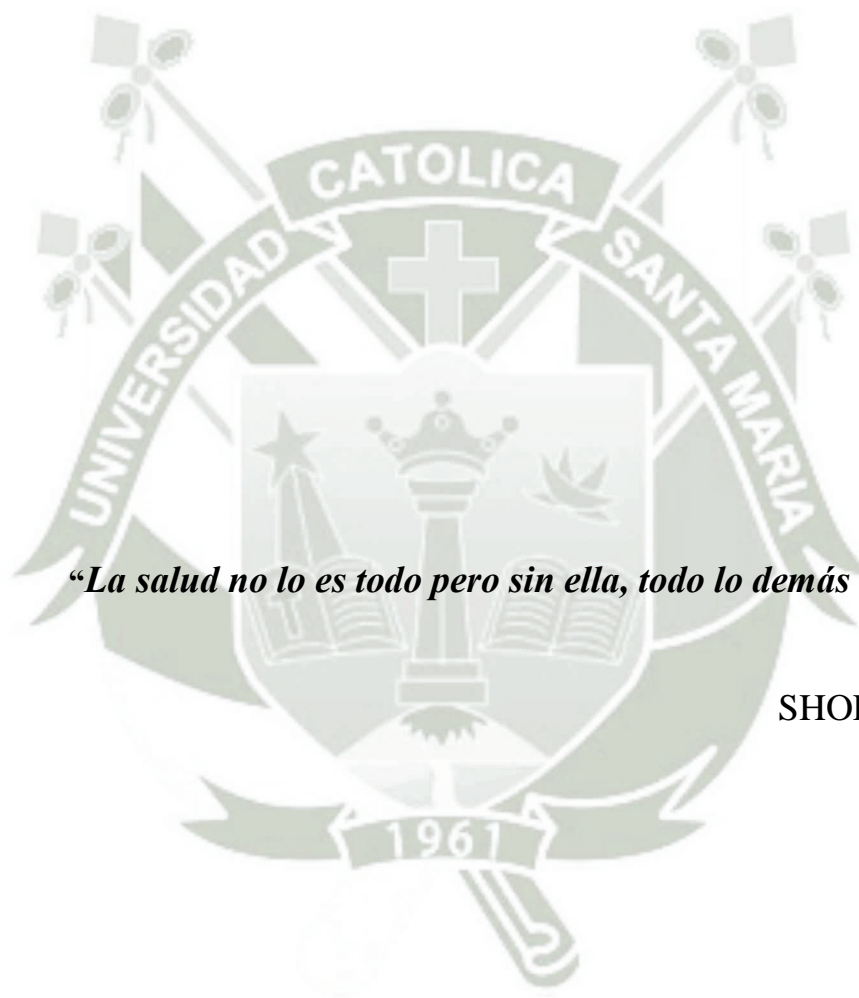
AREQUIPA – PERÚ
2012



A Dios por darme la oportunidad de vivir y regalarme una familia maravillosa.

A mis queridos padres, Gloria y Willy, por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, 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 regalarme tiernos momentos.



“La salud no lo es todo pero sin ella, todo lo demás es nada”

SHOPENHAUER

INDICE

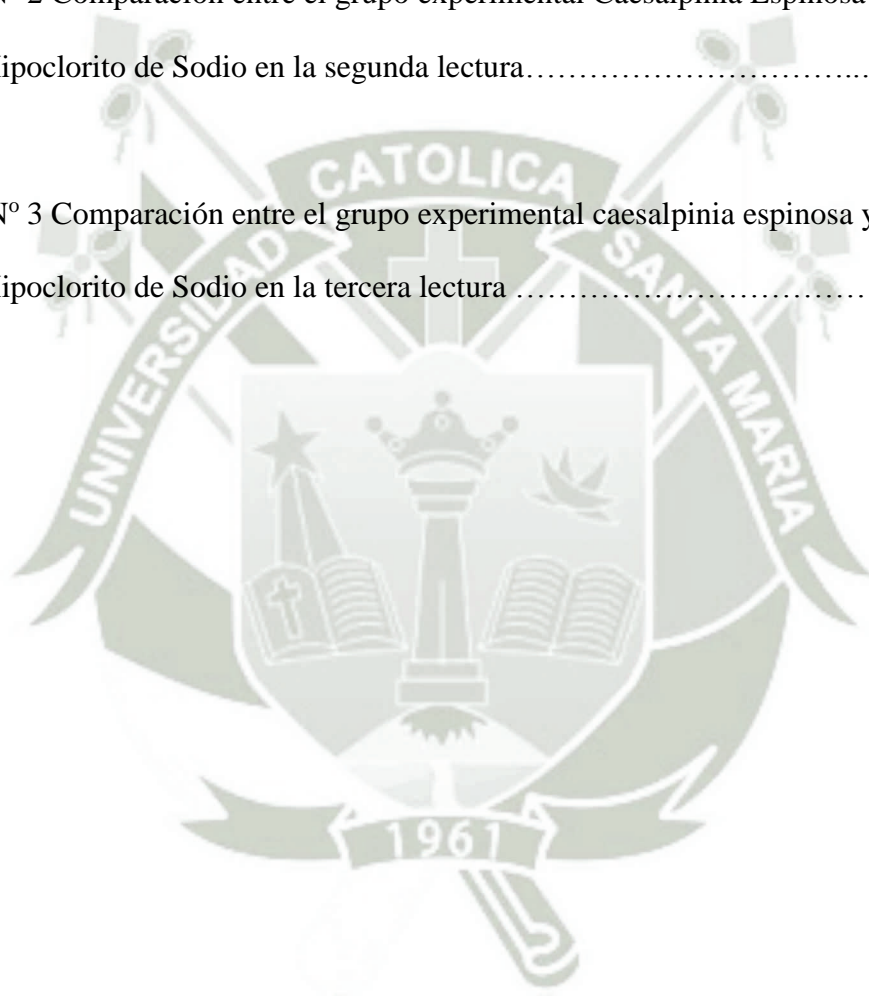
	Pág.
RESUMEN.....	7
ABSTRACT.....	8
INTRODUCCIÓN.....	9
CAPÍTULO ÚNICO:RESULTADOS.....	11
DISCUSIÓN.....	22
CONCLUSIONES.....	23
RECOMENDACIONES.....	24
PROPUESTA.....	25
BIBLIOGRAFIA.....	30
ANEXOS:.....	33
Anexo 1 Proyecto de Investigación.....	34
Anexo 2 Modelo de Instrumento.....	81
Anexo 3 Secuencia Fotográfica.....	83
Anexo 4 Cálculos Estadísticos.....	95
Anexo 5 Constancia de Laboratorio.....	100

INDICE DE TABLAS

Tabla N° 1 Estadísticos descriptivos del grupo experimental Caesalpinia Espinosa.....	12
Tabla N° 2 Estadísticos descriptivos del grupo control Hipoclorito de Sodio.....	14
Tabla N° 3 Comparación entre el grupo experimental Caesalpinia Espinosa y grupo control Hipoclorito de sodio en la primera lectura.....	16
Tabla N° 4 Comparación entre el grupo experimental Caesalpinia Espinosa y grupo control Hipoclorito de sodio en la segunda lectura.....	18
Tabla N° 5 Comparación entre el grupo experimental Caesalpinia Espinosa y grupo control Hipoclorito de Sodio en la tercer lectura	20

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1 Comparación entre el grupo experimental Caesalpinia Espinosa y grupo control Hipoclorito de Sodio en la primera lectura.	16
Gráfico N° 2 Comparación entre el grupo experimental Caesalpinia Espinosa y grupo control Hipoclorito de Sodio en la segunda lectura.....	18
Gráfico N° 3 Comparación entre el grupo experimental caesalpinia espinosa y grupo control Hipoclorito de Sodio en la tercera lectura	20



RESUMEN

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

El procedimiento consistió en sembrar la cepa *Enterococcus Faecalis* (ATCC 29212) en placas con Agar Cerebro Corazón, luego se colocó sensidiscos de 5 mm de diámetro con Hipoclorito de Sodio al 5.25% como grupo control y *Caesalpinia Espinosa* (Tara) al 60% como grupo experimental, se utilizó 24 muestras por cada una de las sustancias a investigar; posteriormente se procedió a incubar las placas en cámara de anaerobiosis a una temperatura de 37 °C, tomándose medidas de halo inhibitorio expresado en milímetros a las 24, 48 y 72 horas.

Los resultados obtenidos y luego sistematizados indicaron que el promedio del halo inhibitorio formado por la *Caesalpinia Espinosa* fue mayor que el halo inhibitorio formado por el Hipoclorito de Sodio, para dicho resultado se aplicó un Test de Normalidad para los datos obtenidos con ambas sustancias, como resultado se determinó que dichos datos tenían una distribución normal. Luego se aplicó el Estadístico T de Student ($p < 0.05$), el cual determinó que sí había diferencia estadísticamente significativa entre los datos obtenidos para la *Caesalpinia Espinosa* y el Hipoclorito de Sodio

En conclusión, la *Caesalpinia Espinosa* demostró tener efecto antimicrobiano frente a la presencia de *Enterococcus Faecalis*, formando halos de diferentes diámetros en las 3 tomas de medidas que se realizó en este estudio.

Palabras Clave: Antimicrobiano, Fracaso Endodóntico, *Enterococcus Faecalis*, *Caesalpinia Espinosa*, Hipoclorito de Sodio

ABSTRACT

The present study aimed to determine the inhibitory halo *Caesalpinia Espinosa* (Tara) on the strain of *Enterococcus faecalis* bacteria known to cause very large percentage of failures in endodontics.

The procedure was to sow the strain *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) in Brain Heart Agar plates, then placed sensitivity discs of 5 mm diameter with Sodium Hypochlorite 5.25% as control group and *Caesalpinia Espinosa* (Tara) 60% as a group experimental, 24 samples were used for each of the substances investigated, then proceeded to incubate plates in an anaerobic chamber at 37 oC, taking measures inhibitory halo in millimeters at 24, 48 and 72 hours.

The results indicated that systematized then the average inhibitory halo formed by *Caesalpinia Espinosa* was greater than the inhibitory halo formed by sodium hypochlorite, for that result was applied normality test data obtained for both substances, as a result was determined that the data were normally distributed. Then we applied the Student t statistic ($p < 0.05$), which determined that if there was statistically significant difference between the data obtained for *Caesalpinia Espinosa* and Sodium Hypochlorite. In conclusion, the *Caesalpinia Espinosa* demonstrated antimicrobial effect against the presence of *Enterococcus faecalis*, forming halos of different diameters in the 3 doses of measures made in this study.

Keywords: Antimicrobial, endodontic failure, *Enterococcus faecalis*, *Caesalpinia Espinosa*, Sodium Hypochlorite.

INTRODUCCIÓN

Sres. Miembros del Jurado:

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 actualmente.

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. Debido a que la *Caesalpinia spinosa*, es un producto natural, no solo será capaz de eliminar los microorganismos, por su poder antimicrobiano demostrado en otros estudios, sino que también ayudará a la mejor cicatrización, propiedad que también ha sido demostrada en estudios preliminares, además de observarse menor cantidad de efectos adversos, por tratarse de una sustancia de origen natural.

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 e Informatografía. Dentro de los Anexos el Proyecto de Investigación organizado en torno al planteamiento teórico y operacional.

La autora



TABLA N° 1

ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS DEL GRUPO EXPERIMENTAL

CAESALPINIA ESPINOSA

	N	Promedio	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo	Mediana	Asimetría	Curtosis
dia1	24	6,01875	0,720479	4,500	7,525	6,05000	-0,021	0,150
dia2	24	6,18854	0,674778	5,000	7,575	6,25000	-0,097	-0,180
dia3	24	6,33021	0,686238	5,025	7,525	6,35000	-0,038	-0,705

En el grupo experimental CAESALPINIA ESPINOSA el promedio de diámetro de la primera lectura es 6,01875 lo que interpreta que la CAELSAPINIA ESPINOSA a generado un espacio vacío (halo inhibitorio) de 6 mm en el cultivo microbiológico.

Luego en la segunda lectura la medida fue de 6,18854 y finalmente en la tercera lectura la medida fue de 6,33021, 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 y el día 3 se va acercando más a una distribución normal. La desviación Estándar en la primera medición fue de 0,720479 en la segunda de 0,674778 y en la tercera fue de 0,686238, con respecto al mínimo los datos se distribuyen en un rango de 4,500 a 5,025 para el primer día y el tercer día respectivamente, lo cual determina que los valores mínimos del día 1 al día 3 fueron aumentando progresivamente, para el máximo los valores fueron de 7,525 para el día 1, 7,575 para el día 2 y 7,525 para el día 3. De lo cual se deduce que fue variable los valores máximos con tendencia a aumentar y luego a mantenerse igual al día 1. Los valores para la

mediana fueron de 6,05000 para el día 1, 6,25000 para el día 2 y para el día 3 de 6,35000. En la asimetría se obtuvo para el día 1 un valor de -0,021 para el día 2 un valor de -0,097y para el día 3 un valor de -0,038. Los valores en la curtosis para la primera medición fueron 0,150, para la segunda medición fueron -0,180y para la tercera medición fue -0,705.



TABLA N° 2

**ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS DEL GRUPO CONTROL HIPOCLORITO DE
SODIO**

	N	Promedio	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo	Mediana	Asimetría	Curtosis
dia1	24	2,63896	0,670042	1,250	3,750	2,51500	0,070	-0,649
dia2	24	2,73958	0,653748	1,750	4,025	2,52500	0,401	-0,989
dia3	24	2,82625	0,703713	1,500	4,075	3,02500	0,031	-0,890

En el grupo control HIPOCLORITO DE SODIO el promedio fue de 2.63896 en la primera medición; lo que se interpreta como que el hipoclorito de sodio generó un espacio vacío (halo inhibitorio) de 2,64mm en el cultivo microbiológico.

En la segunda medición 2.73958 y en la tercera lectura 2.82625; lo que indica que el promedio va aumentando ligeramente de una medición a otra. De los datos podemos deducir que el diámetro del día 1 posee una ligera asimetría, posteriormente el día 2 se va tornando menos asimétrico y el día 3 se va acercando más a una distribución normal. La Desviación Estándar en la primera medición fue de 0,670042 en la segunda de 0,653748, y en la tercera de 0,703713, con respecto al mínimo los datos se distribuyen en un rango de 1,250 a 1,500 para el primer día y el tercer día respectivamente, lo que indica que los valores mínimos del día 1 al día 3 fueron aumentando progresivamente, para el máximo los valores fueron de 3,750 para el día 1 para el día 2 la medida fue de 4,025 y 4,075 para el día 3 de lo cual se puede deducir que el valor máximo fue aumentando del día 1 al 3 lo que indica que fue una progresión constante. Los valores para la mediana fueron de 2,51500 para el día 1, 2,52500 para el día 2 y para el día 3 de 3,02500. En la asimetría se obtuvo

para el día 1 un valor de 0,070 para el día 2 un valor de 0,401 y para el día 3 un valor de 0,301. Los valores en la curtosis para la primera medición fueron -0,649, para la segunda medición fueron -0,989 y para la tercera medición fue -0,890



TABLA N° 3

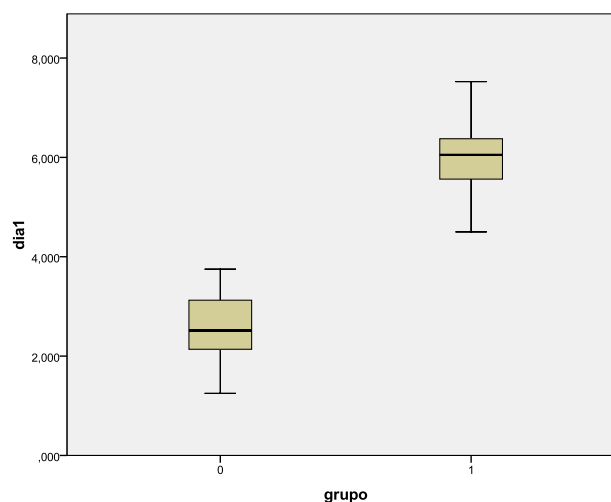
**COMPARACIÓN ENTRE EL GRUPO EXPERIMENTAL CAESALIPINIA
ESPINOSA Y GRUPO CONTROL HIPOCLORITO DE SODIO Y EN LA
PRIMERA LECTURA.**

		Grupo	
		Experimental	Control
Día1	Promedio	6,019	2,639
	Mediana	6,050	2,515
	Moda	6,250	2,000
	Mínimo	4,500	1,250
	Máximo	7,525	3,750
	Desviación Estándar	0,720	0,670

Prueba T Student -16,829 p=0.000 p<0,05 (SIG)

GRÁFICO N° 1

**COMPARACIÓN ENTRE EL GRUPO EXPERIMENTAL CAESALIPINIA
ESPINOSA Y GRUPO CONTROL HIPOCLORITO DE SODIO EN LA PRIMERA
LECTURA.**



Con respecto a los valores del promedio para el grupo experimental Caesalpinia Espinosa es de 6,019 y para el grupo control Hipoclorito es de 2,639 lo cual determina que la diferencia entre los promedios de ambos halos inhibitorios fue de por lo menos 3.38 mm, siendo el promedio de halos inhibitorios para grupo experimental mayor que el promedio de los halos inhibitorios del grupo control, la mediana para el Grupo control es 2,515 y para el grupo experimental es de 6,050, con respecto a la moda para el grupo del Hipoclorito es de 2,000 y para la Caesalpinia Espinosa es de 6,250, el valor mínimo para el grupo control es de 1,250 y para el grupo experimental es de 4,500, el valor máximo para el grupo control es de 3,750 y para el grupo experimental es de 7,525, tanto para los valores máximos y mínimos para el primer día de toma de datos, el grupo experimental Caesalpinia Espinosa presentaba valores bastante altos a comparación del grupo control y con respecto a la desviación estándar los valores fueron de 0,670 para el hipoclorito y 0,720 para la Caesalpinia Espinosa.

Se observa que los promedios son muy diferentes y ambas distribuciones estadísticas tienen rangos variados para los valores obtenidos el día 1

TABLA N° 4

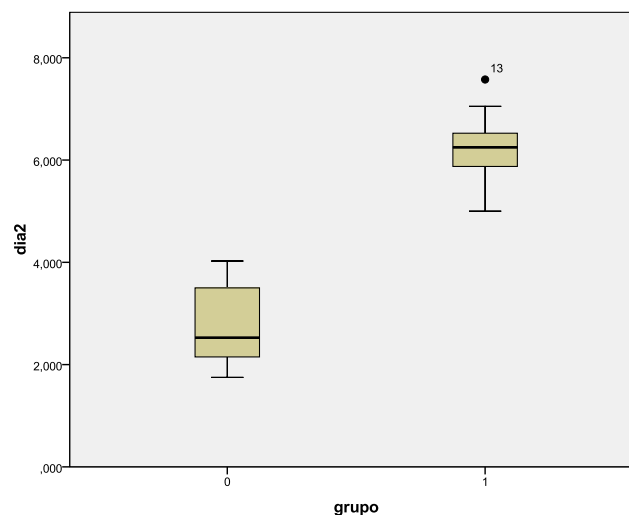
**COMPARACIÓN ENTRE EL GRUPO EXPERIMENTAL CAESALIPINIA
ESPINOSA Y GRUPO CONTROL HIPOCLORITO DE SODIO EN LA SEGUNDA
LECTURA.**

		Grupo	
		Experimental	Control
Dia2	Promedio	6,189	2,740
	Mediana	6,250	2,525
	Moda	6,250	2,525
	Mínimo	5,000	1,750
	Máximo	7,575	4,025
	Desviación Estándar	0,675	0,654

Prueba T Student -17,984 p=0,000 p< 0,05 (SIG)

GRÁFICO N° 2

**COMPARACIÓN ENTRE EL GRUPO CONTROL HIPOCLORITO DE SODIO Y
GRUPO EXPERIMENTAL CAESALIPINIA ESPINOSA EN LA SEGUNDA
LECTURA**



Con respecto a los valores del promedio para el grupo Caesalpinia Espinosa es de 6,189 y para el grupo Hipoclorito es de 2,740, lo cual determina que la diferencia entre los promedios de ambos halos inhibitorios fue de por lo menos 3.449 mm, siendo el promedio de halos inhibitorios para grupo experimental mayor que el promedio de los halos inhibitorios del grupo control la mediana para el Grupo control es 2,525 y para el grupo experimental es de 6,250, con respecto a la moda para el grupo del Hipoclorito es de 2,525 y para la Caesalpinia Espinosa es de 6,250, el valor mínimo para el grupo control es de 1,750 y para el grupo experimental es de 5,000, el valor máximo para el grupo control es de 4,025 y para el grupo experimental es de 7,575, tanto para los valores máximos y mínimos para el segundo día de toma de datos, el grupo experimental Caesalpinia Espinosa presentaba valores bastante altos a comparación del grupo control con respecto a la desviación estándar los valores fueron de 0,654 para el hipoclorito y 0,675 para la Caesalpinia Espinosa.

En la segunda lectura los promedios y rangos de datos, demuestran tener diferencia estadísticamente significativa, ambas distribuciones estadísticas tiene rangos muy variados.

TABLA N° 5

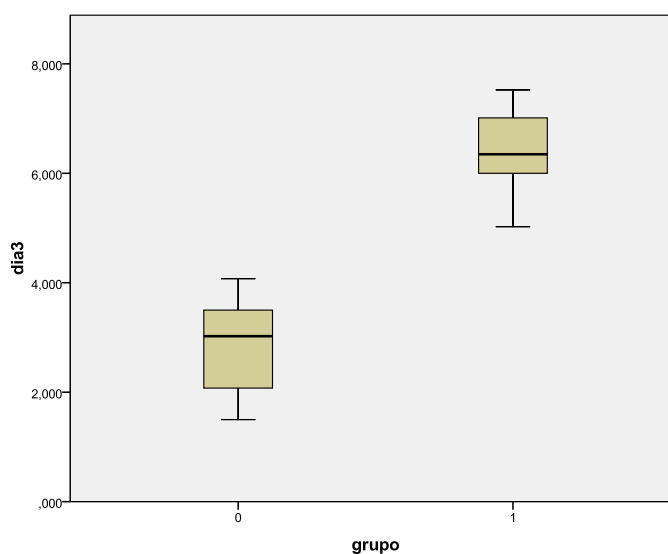
**COMPARACIÓN ENTRE EL GRUPO EXPERIMENTAL CAESALIPINIA
ESPINOSA Y GRUPO CONTROL HIPOCLORITO DE SODIO EN LA TERCERA
LECTURA.**

		Grupo	
		Experimental	Control
Día3	Promedio	6,330	2,826
	Mediana	6,350	3,025
	Moda	6,000	2,075
	Mínimo	5,025	1,500
	Máximo	7,525	4,075
	Desviación Estándar	0,686	0,704

Prueba T Student-17,464 $p=0,000$ $p > 0,05$ (SIG)

GRÁFICO N° 3

**COMPARACIÓN ENTRE EL GRUPO EXPERIMENTAL CAESALIPINIA
ESPINOSA Y GRUPO CONTROL HIPOCLORITO DE SODIO EN LA TERCERA
LECTURA**



Con respecto a los valores del promedio para el grupo experimental Caesalpinia Espinosa es de 6,330 y para el grupo control Hipoclorito es de 2,826 lo cual determina que la diferencia entre los promedios de ambos halos inhibitorios fue de por lo menos 3.504 mm, siendo el promedio de halos inhibitorios para grupo experimental mayor que el promedio de los halos inhibitorios del grupo control, la mediana para el Grupo control es 3,025 y para el grupo experimental es de 6,350, con respecto a la moda para el grupo del Hipoclorito es de 2,075 y para la Caesalpinia Espinosa es de 6,000, el valor mínimo para el grupo control es de 1,500 y para el grupo experimental es de 5,025, el valor máximo para el grupo control es de 4,075 y para el grupo experimental es de 7,525, tanto para los valores máximos y mínimos para el primer día de toma de datos, el grupo experimental Caesalpinia Espinosa presentaba valores bastante altos a comparación del grupo control y con respecto a la desviación estándar los valores fueron de 0,704 para el hipoclorito y 0,686 para la Caesalpinia Espinosa.

Se observa que los promedio son muy diferentes y ambas distribuciones estadísticas tienen rangos variados para los valores obtenidos el día 3, demostrando tener diferencia estadísticamente significativa.

DISCUSION

- Sánchez Ruiz y colaboradores realizaron un estudio de actividad microbiana de Hipoclorito de sodio al 5% en la dilución 1:1 (2.5%) dando como resultado que la actividad antimicrobiana del hipoclorito de sodio no duró hasta las 72 horas. Esto puede deberse a que se realizó la dilución del hipoclorito, por lo tanto le resto acción antibacteriana a comparación de nuestro estudio que el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio estaba presente a las 72 horas.
- Espinel Pinzon Mercy realizó un estudio sobre 30 premolares que fueron infectados por la cepa de enterococcus Faecalis, colocándoles 4 combinaciones de NaOCL y EDTA. Los resultados obtenidos fueron que ninguna de las sustancias irrigadoras solas o combinadas con el quelante lograron la remoción completamente del E. Faecalis. Esto puede deberse a que se realizó el estudio en diente natural y algún factor no permitió la correcta utilización del NaOCL por lo tanto su efecto antimicrobiano no fue positivo, a comparación de los resultados de nuestro estudio en el cual el NaOCL si presenta promedios positivos de acción antimicrobiana.
- 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 *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 que concuerda con nuestro estudio en el que también se observó una actividad antibacteriana notoria.

CONCLUSIONES

PRIMERA: El efecto de la Caesalpinia Espinosa al 60% en el halo inhibitorio del Enterococcus Faecalis en promedio fue de 6,33 mm con una desviación estándar de 0,68.

SEGUNDA: El efecto del Hipoclorito de Sodio al 5.25% en el halo inhibitorio del Enterococcus Faecalis en promedio fue de 2,82 mm con una desviación estándar de 0.7

TERCERA: Hubo diferencia estadísticamente significativa al comparar el efecto de la Caesalpinia Espinosa al 60% y el Hipoclorito de Sodio al 5.25% 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 hipoclorito de Sodio al 5.25% en el halo inhibitorio del Enterococcus Faecalis

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 la muestra e investigando el efecto del producto contra otros medicamentos ya utilizado en odontología ya sea en Endodoncia o en otras disciplinas de la Medicina.
- 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 es su práctica clínica, en beneficio del paciente y para la obtención de tratamientos exitosos.

PROPUESTA

I.- ASPECTOS GENERALES.

1.1 NOMBRE DEL PROYECTO :

Medicación antimicrobiana para el tratamiento endodóntico de piezas necróticas

“TARAENDOX”

1.2 UNIDAD FORMULADORA Y EJECUTORA:

Autora en Coordinación con la Universidad Católica de Santa María.

1.3 PARTICIPACIÓN DE ENTIDADES INVOLUCRADAS Y BENEFICIARIOS:

- Centro Interdisciplinario de Investigación e Innovación de la Universidad Católica de Santa María (CICA)
- Doctorado de Odontología
- Facultad de Odontología
- Ministerio de Salud
- EsSalud
- Fuerzas Armadas

1.4 MARCO DE REFERENCIA.

La referencia se tomó; ya que el producto natural *Caesalpinia Espinosa* al 60% demostró en investigaciones previas tener efecto antibacterianos, antiinflamatorios y cicatrizante por lo tanto se consideró investigar si la *Caesalpinia Espinosa* al 60% poseía un efecto antibacteriano al igual que hipoclorito de sodio al 5.25% sobre el

Enterococcus Faecalis, bacteria persistente en los fracasos endodónticos; donde se comprobó que el efecto antibacteriano del Enterococcus Faecalis fue mayor que del Hipoclorito de Sodio al 5.25%

II.- IDENTIFICACIÓN

2.1 DIAGNÓSTICO DE LA SITUACIÓN ACTUAL.

En la actualidad existe numerosos estudios que determinan el gran número de fracasos endodónticos con diagnóstico Necro tipo I y tipo II provocados por la desinfección deficiente de los canales radiculares, y dentro de los microorganismos responsables de estos fracasos está presente el Enterococcus Faecalis, debido a su capacidad de sobrevivencia a medios hostiles, por lo que se considera a la Caesalpinia Espinosa como sustancia antimicrobiana para evitar fracasos endodónticos.

2.2 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA Y SUS CAUSAS

La sustancia de mayor uso en nuestro medio como irrigante con respecto a tratamiento de necropulpectomia tipo I y tipo II es el hipoclorito de Sodio al 5.25%, siendo este producto irritante a los tejidos periapicales pudiendo producir necrosis a ese nivel si es extravasado por el foramen apical, lo que se desea es utilizar la Caesalpinia Espinosa, que posee un mayor efecto antimicrobiano y es biocompatible por tratarse de un producto natural. Una de las causas por las que se utiliza el hipoclorito de Sodio al 5.25% es que se encuentra fácilmente en el mercado, no es muy costoso, es de fácil aplicación y es muy difundido sin embargo no es biocompatible.

2.3 OBJETIVO DEL PROYECTO.

Objetivo General:

- Desarrollar un material biocompatible para ser usado como irrigante en el tratamiento de conductos radiculares necrótico.

Objetivo específico:

- Propiciar dicho material a costo accesible, que tenga fácil manejo y de rápida aplicación para su aplicación en Necropulpectomía tipo I y tipo II

III.-FORMULACIÓN Y EVALUACIÓN.

3.1 ANÁLISIS DE LA DEMANDA.

Existe demanda, ya que en nuestro medio no hay un producto que tenga bajos costos, que sea un buen antimicrobiano contra el *Enterococcus Faecalis* y sea biocompatible

3.2 ANÁLISIS DE LA OFERTA.

Existen todos los medios necesarios para la elaboración y empaque del producto.

3.3 BALANCE OFERTA DEMANDA.

Favorable

3.4 ACTIVIDADES A REALIZAR

- Inscripción del Producto en Indecopi (Patente)
- Coordinación con Universidad Católica Santa María para la producción del producto
- Convocatoria de colaboradores para la elaboración del producto

- Capacitación del personal colaborador
- Elaboración del Producto
- Difusión en los medios de prensa sobre la existencia del producto los beneficios de su uso y su fácil aplicación.
- Distribución a Casas Dentales locales para la venta del producto.

3.5 PRESUPUESTO.

Constituir un primer lote para prueba piloto, producto terminado 1 litro esterilizado y procesado.

- Polvo de Caesalpinia Espinosa 2 Kg S/.10.00
- Alcohol al 96% 4 Lt. S/.36.00
- Antioxidantes y Excipientes 150 gr S/.200.00
- Costo Total Aproximado sujeto a variaciones S/250.00

Se colocará en frascos de 30ml

Costo por frasco S/. 10.00

3.6 BENEFICIOS.

- Costo Bajo
- Fácil Acceso
- Fácil Preparación

3.7 EVALUACIÓN SOCIAL.

El impacto social será grandioso por el costo de dicho material y por la gran cantidad de endodoncias exitosas que se podrá obtener usando este producto para su posterior rehabilitación. Por lo que no se tendrá que optar por una extracción y pérdida de la

pieza, recuperándose de esta forma la salud bucal, de manera que podamos mejorar la calidad de vida de las personas

3.8 ANÁLISIS DE SENSIBILIDAD.

Puede existir inconvenientes con otros productos biocompatibles como Caesalpinia Espinosa o los excipientes y conservantes usados en la elaboración del producto.

3.9 SOSTENIBILIDAD.

Se mantiene a través del tiempo, pues su uso se pretende generalizarlo a nivel nacional e internacional.

3.10 IMPACTO AMBIENTAL.

Todos los residuos de las labores, ejecutadas en el presente proyecto serán eliminados, de acuerdo a las normas internacionales de BIOSEGURIDAD, recomendadas por la OMS.

IV.-CONCLUSIÓN

- La preparación de este nuevo material avisa nuevas esperanzas en los tratamientos endodónticos tipo I y tipo II.
- Su uso debe generalizarse y difundirse ya que es un material completamente inocuo al organismo humano.
- La repercusión social que tendría dicho producto es favorable, ya que por su costo es accesible y mediante el uso de este se podrá recuperar la salud oral mejorando la calidad de vida de los pacientes en los cuales será aplicado dicho producto.

V BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- Cohen S, Burns RC. Vias de la Pulpa 2003. Missouri. Mosby
- Glossary: American Association of Endodontics. Contemporary terminology for Endodontics. 7th ed. Chicago, 2003
- Gonzalez MA, Gonzalez N. Infecciones bacterianas de origen pulpar y periodontal. Oral Med Oral Pathol Oral Surg. 2004
- Yolken R. Editores. Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology 2002: 207-305

VI HEMEROGRAFIA

- Attin et al, El hipoclorito de sodio disuelve tejido necrótico, no tejido vital. J International Endod. 2002
- Barriga, C. Cultivo y Aprovechamiento de la Tara, *Caesalpinia spinosa*, en la Región Andina. Informe Técnico. Lima 2008
- Buck, R.A, Eleazer, PD. Effectiveness of three endodontic irrigants at various tubular depths in human dentin. J. of Endod 2001. 27: 206-208.
- Carson KR, Goodell GG, McClanahan SB. Comparison of the Antimicrobial Activity of Six Irrigants on Primary Endodontics Patogens. J Endodon 2005; 3: 471-473
- Clegg MS, Vertucci FJ, Walker C, Belanger M, Britto LR. The Effect of Exposure to Irrigant Solutions on Apical Dentin Biofilms in Vitro. J Endodon 2006. 31:471-473

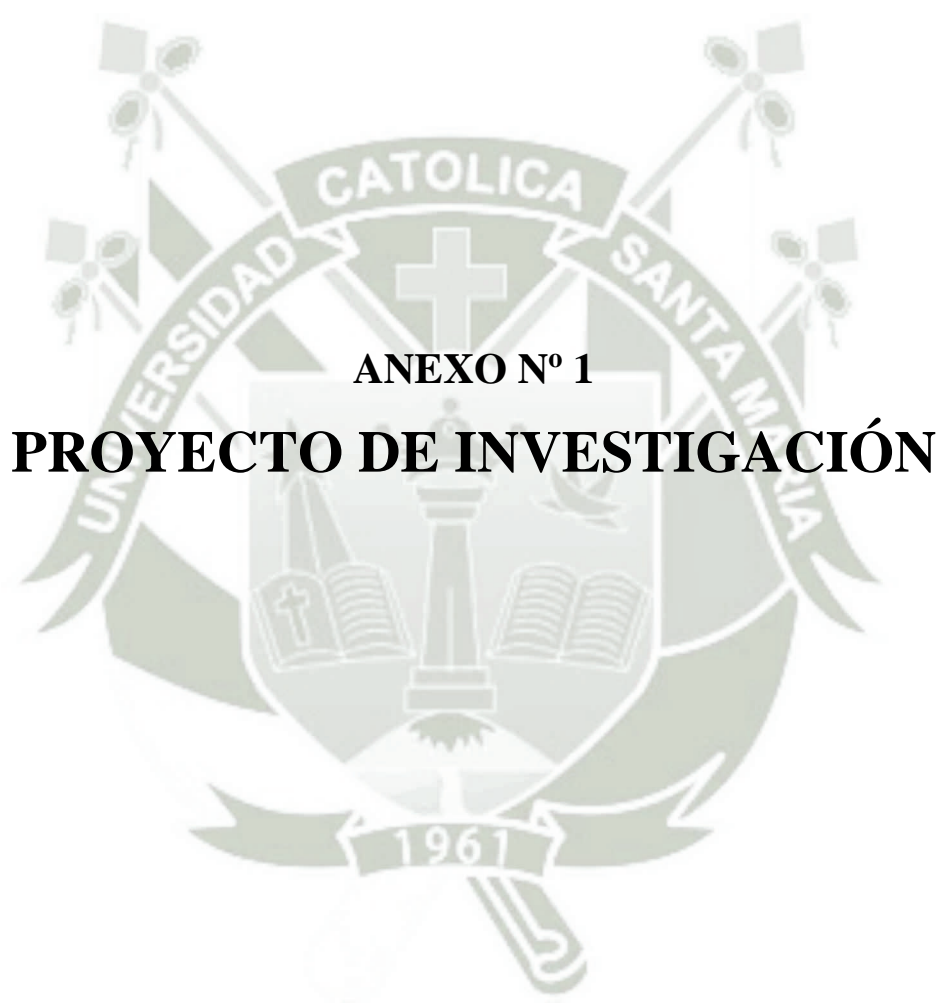
- Estrela C, Estrela CRA, Barbin EL, Spanó JL, Marchesan MA, Pécora JD. Mechanism of action of Sodium Hypochlorite. Branz Dent J 2002;13: 113-117
- Fraiss, S. Gulabivala K. Some factors affecting the concentration of available chlorine in commercial sources of sodium hypochlorite. Int Endod J. 2001
- García, G., Olivo, R, Ochoa, C. Complicaciones con el hipoclorito de sodio (NaOCL) al entrar en contacto con los tejidos periradiculares. Univers Odont. 2001. 21:26-29.
- 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.
- Jett B, Huycke M. Gilmore M. Virulence of Enterococci. Clin Microbiol Rev. 1994;7 :462-478
- Lima K, Fava L, Siqueira J. Susceptibilities of Enterococcus faecalis biofilms to some antimicrobial medications. J Endod. 2001; 27: 616-9.
- Mc Hugh C, Zhang P, Michalek S, Eleazer P. Ph required to kill Enterococcus Faecalis in vitro. J Endod. 2004;30 : 218-219
- Mérida H, Díaz M. Estudio con microscopio electrónico de barrido de la acción desinfectante de diez diferentes irrigantes sobre los conductos dentinarios. V Interamerican Electrón Microscopy Congress, 2000, Porlamar, Isla de Margarita
- Nakajo K, et. al .Resistance to acidic and alkaline environments in the endodontic pathogen Enterococcus faecalis. Oral Microbiol Immunol. 2006; 21: 283-8

- 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
- Spano JC, Barbin EL, Santos TC, Guimaraes LF, Pecora JD. Solvent action of sodium Hypochlorite on bovine pulp and physico-chemical properties of resulting liquid. Braz Dent J 2001; 12: 154-157
- 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
- Sundqvist G, Figdor D. Life as an endodontic pathogen. Ecological differences between the untreated and root-filled root canals. Endod Topics. 2003; 6: 3-28

VII INFORMATOGRAFIA

- [www. tanino.tripod.com](http://www.tanino.tripod.com) http/
- www.peruprom.com/hogar/lejia.html
- www.riie.com.pe/?a=29384/.tanino
- www.taraexport.com/?cont=2&idioma=es
- www.apicoladelalba.cl/actividad-antimicrobiana-de-plantas-sci
- http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/odontologia/2012_n1/pdf/a08v15n1.pdf
- www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0366-16442002000100005
- <http://es.scribd.com/doc/55448122/Tanino> 15/08/2012





UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Escuela de Post Grado

DOCTORADO EN ODONTOLOGÍA



EFFECTO IN VITRO DE LA SOLUCIÓN DE CAESALPINIA ESPINOSA AL 60% EN EL HALO INHIBITORIO DE ENTEROCOCCUS FAECALIS. AREQUIPA 2012

Proyecto de Tesis presentada por la
Magister. **Vanessa Lissete Bornaz Arenas**
para optar el Grado Académico de
Doctora en Odontología

AREQUIPA – PERÚ
2012

I.- PREÁMBULO

La identificación del presente problema de investigación fue producto de la revisión bibliográfica de tesis realizadas para eliminar al *Enterococcus Faecalis*, microorganismo muy conocido y relacionado a los fracasos endodónticos, este estudio pretende determinar el efecto antimicrobiano de la solución de *Caesalpinia Espinosa* (Tara), que es un producto natural obtenido de una de las tantas plantas medicinales presentes en el Perú.

La flora del Perú con sus incontables especies constituye una fuente de estudio interminable, si se dice que a nivel mundial menos del 10% de flora ha sido estudiada químicamente, sin temor a equivocarnos diríamos que en nuestro país no más del 1% es lo que conocemos, lo que significa que cientos de compuestos están esperando su descubrimiento.

Nos encontramos en la era de la fotoquímica, y debemos de hacer los esfuerzos para que, este oro verde del Perú, sea en provecho de todos los peruanos. Debido a que la *Caesalpinia Espinosa*, que es un producto natural, no solo será capaz de eliminar los microorganismos, por su poder antimicrobiano demostrado en otros estudios, sino que también ayudará a la mejor cicatrización, propiedad que también ha sido demostrada en estudios preliminares, además de observarse menor cantidad de efectos adversos, por tratarse de una sustancia de origen natural.

A pesar que estamos en una Era Odontológica Preventiva y se buscan los índices adecuados de higiene oral y se usan métodos, estrategias y programas preventivos de caries, estas medidas no resuelve el daño que ya está presente, por lo tanto debería tomarse importancia a la necesidad de eliminar los microorganismos más agresivos presentes en piezas necrosadas para que nos permita mantener dichas piezas en boca mediante un tratamiento endodóntico que tengo éxito al 100%.

Por lo tanto el resultado de la presente tesis nos ayudará a determinar los efectos microbiológicos de la Caesalpinia Espinosa sobre el Enterococcus Faecalis a comparación del Hipoclorito de Sodio al 5.25% producto utilizado actualmente en las terapias pulpares para eliminar los microorganismos en pulpas necróticas, de tal manera que podamos obtener un tratamiento endodóntico adecuado sin posibilidad de fracaso usando una sustancia que ofrezca mayores beneficios.

Teniendo en cuenta que desde el punto de vista de Salud Pública, el problema de caries abarca al 95 % de la población, debemos tener en cuenta que el tratamiento endodóntico será indispensable al igual que otros tratamientos restauradores para recuperar gran parte de la salud bucal de la población.

II PLANTEAMIENTO TEÓRICO

1 PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.-

1.1 ENUNCIADO DEL PROBLEMA.-

“Efecto Antimicrobiano In Vitro De La Solución De Caesalpinia Espinosa (Tara) Al 60% En El Halo Inhibitorio Microbiano De Enterococcus Faecalis. Arequipa. 2012”

1.2 DESCRIPCION DEL PROBLEMA

a) Área de Conocimiento

- Área General: Ciencias de la Salud
- Área Especifica: Odontología
- Especialidad: Endodoncia
- Tópico: Antimicrobianos en el Tratamiento Pulpar.

b) Análisis De Variables

VARIABLES			INDICADORES	SUBINDICADORES
VARIABLE INDEPENDIENTE	ESTIMULO 1 (Sustancia Experimental)	CAESALPINA ESPINOSA 60%	Concentración Optima	Mg/ml
	ESTIMULO 2 (Sustancia Control)	HIPOCLORITO DE SODIO AL 5.25%		
VARIABLE DEPENDIENTE	VARIABLE RESPUESTA	HALO INHIBITORIO MICROBIANO DE ENTEROCOCCUS FAECALIS	Diámetro del halo inhibitorio	mm

c) Interrogantes Básicas.-

c1. ¿Cuál será efecto de la caesalpinia espinosa al 60% en el halo inhibitorio de enterococcus faecalis?

c2 ¿Cómo será el efecto el hipoclorito de sodio al 5.25% en el halo inhibitorio de enterococcus faecalis?

c3 ¿El efecto de la caesalpinia espinosa al 60% en el halo inhibitorio del enterococcus faecalis será mayor que el efecto el hipoclorito de sodio al 5.25% en el halo inhibitorio de enterococcus faecalis?

d) Tipo y Nivel de Investigación.-

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

1.3 JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA.-

La presente investigación está basada en estudios preliminares en los cuales se ha comprobado la capacidad antibacteriana tanto del hipoclorito de sodio y de la caesalpinia espinosa en otras especialidades, por lo tanto es relevante determinar si la caesalpinia espinosa tiene propiedades terapéuticas que podrían ser utilizadas en el tratamiento de conductos radiculares.

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 natural 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 utilizados en endodoncia en función al beneficio de los pacientes.

Por lo tanto el presente estudio tiene como principal objetivo. Comparar la efectividad antimicrobiana, mediante la disminución del número de microorganismos de la cepa *Enterococcus Faecalis* con CAESALPINA ESPINOSA al 60% de tal manera que pueda haber la posibilidad de usarla en tratamiento de conductos radiculares.

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 periradiculares 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 utilizada 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 como el *Enterococcus Faecalis*.

Debido a la importancia que tendría el realizar el presente estudio se realizará para obtener el grado de Doctor en Odontología, de acuerdo con las áreas problemáticas relacionadas a Odontología y con el nivel científico requerido por la Escuela de Post Grado para una tesis de Doctorado, de igual forma se considera viable por que 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 Caesalpini, 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

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

² [http:// tanino.tripod.com/](http://tanino.tripod.com/)·tanino 22/08/12 10:30 pm.

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, alternas y están dispuestas en forma espiral, con 6 a 8 pares de foliolos 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> 21/08/12 09:00 pm.

⁴ <http://www.riie.com.pe/?a=29384> 22/08/12 10:00 am.

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

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”.

Contraindicaciones, Efectos Adversos y/o Reacciones Adversas:

No se encuentra literatura al respecto.

2.1.7 Grupos principales de componentes antimicrobianos de las plantas

Las plantas tienen una casi ilimitada habilidad de sintetizar sustancias aromáticas, gran cantidad de ellas son fenoles o sus derivados de oxígenos sustituidos. Muchos son metabolitos secundarios de los cuales por lo menos 12000 han sido aislados, un número estimado menor en un 10% del total.

En numerosos casos estas sustancias sirven como mecanismos de defensa de las plantas contra la predación por microorganismos, insectos y herbívoros. Algunos, tales como los **flavonoides** son sintetizados por las plantas en respuesta a la infección antimicrobiana, los terpenoides, dan a las plantas sus olores; otros (quinonas y taninos) son responsables del pigmento de las plantas. Muchos componentes son asimismo responsables del sabor de las plantas (el terpenoide capsaicina en caso del ají), y algunas de las hierbas y

especies usados por los humanos para sazonar los alimentos producen compuestos medicinales útiles.⁵

En investigaciones realizadas se encontró que los taninos y flavonoides son metabolitos, encontrados en el estudio fitoquímico del extracto de Tara que se encuentran en diferentes partes de la planta. Estos son solubles en agua, etanol, acetona y otros disolventes orgánicos. Tienen acción farmacológica como antihemorrágico local, antidiarréico, antihepatóxica y antibacteriano.⁶

Flavonoides: Son estructuras fenólicas que contienen un solo grupo carbonilo. Estos compuestos son sintetizados por las plantas en respuesta a la infección antimicrobiana, y su actividad sobre las bacterias probablemente se deba a su capacidad de generar complejos con proteínas extracelulares y proteínas solubles, así como una actividad sobre la pared celular muy similar a la de las quinonas. Los flavonoides lipofílicos pueden perturbar la integridad estructural de la membrana celular.

Las catequinas derivados de los flavonoides, han sido estudiadas como los compuestos que generan la actividad antimicrobiana in vitro en el té verde, sobre *Vibrio cholerae* O1, *Streptococcus mutans* y *Shigella*, principalmente.

La mayor inhibición en el desarrollo bacteriano la presentaron las flavonoides,. Asimismo, aquellas flavonoides con mayor número de grupos hidroxilos, provocaron mayor inhibición en la duplicación bacteriana,

⁵ <http://www.apicoladelalba.cl/actividad-antimicrobiana-de-plantas-sci/> 22/10/2012 08:00 am.

⁶ http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/odontologia/2012_n1/pdf/a08v15n1.pdf 10/11/2012 07:30 am.

especialmente las que poseen además la presencia de un grupo metoxilo, que aumenta la lipofilia del compuesto.⁷

Taninos: Los taninos tienen un ligero olor característico, sabor amargo y astringente, y su color va desde el amarillo hasta el castaño oscuro. Los taninos se utilizan en el curtido porque reaccionan con las proteínas de colágeno presentes en las pieles de los animales, uniéndolas entre sí, de esta forma aumenta la resistencia de la piel al calor, a la putrefacción por agua, y al ataque por microbios. Los taninos son metabolitos secundarios de las plantas, son sustancias fenólicas, no nitrogenadas, solubles en agua y no en alcohol ni solventes orgánicos.

Se ha considerado que los taninos, en muchas bebidas como el té verde y el vino, tienen actividades reforzadoras de la salud (estimulación de la actividad fagocitaria, actividad antitumoral mediada por el hospedero y un amplio rango de actividad antiinfecciosa). En las plantas, los taninos tienen una acción inhibitoria del crecimiento de insectos y perturban la digestión de rumiantes. Se cree que la actividad antimicrobiana de estos compuestos se debe a su interacción sobre las adhesinas, proteínas de la pared celular, y a su capacidad de unirse a polisacáridos.⁸

⁷ http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0366-16442002000100005 28/08/2012 09:00 am.

⁸ <http://es.scribd.com/doc/55448122/Tanino> 15/08/2012 09:30 am.

2.2 HIPOCLORITO DE SODIO

Es un compuesto químico resultante de la mezcla del cloro, hidróxido de sodio y agua. Fue desarrollado por el francés Berthollet en 1787 para blanquear telas. Luego, a fines de siglo XIX, Luis Pasteur comprobó su poder de desinfección, extendiendo su uso a la defensa de la salud contra gérmenes y bacterias.

Su amplia utilización en endodoncia se debe a su capacidad para disolver tejidos y a su acción antibacteriana.⁹

2.2.1 Mecanismo de acción

Según Estrela y Cols. , las acciones del hipoclorito de sodio operan mediante tres mecanismos:

- a) Saponización: donde actúa como un solvente orgánico que degrada los ácidos grasos hacia sales ácidas grasosas (jabón) y glicerol (alcohol), reduce la tensión superficial de la solución remanente
- b) Neutralización, donde el hipoclorito de sodio neutraliza aminoácidos formando agua y sal.
- c) Cloraminación. La reacción entre el cloro y el grupo amino forma cloraminas que interfieren en el metabolismo celular. El cloro posee una acción

⁹ www.peruprom.com/hogar/lejia.html. 26/08/12 12:30 am.

antimicrobiana inhibiendo enzimas esenciales de las bacterias por medio de oxidación.¹⁰

La acción bactericida y de disolución de tejidos de hipoclorito de sodio puede ser modificado por tres factores: concentración, temperatura y pH de la solución.

Se ha estudiado la efectividad de diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio con respecto a su acción solvente y bactericida. Varios investigadores están de acuerdo en que las soluciones con una concentración más alta de hipoclorito de sodio son más efectivas que las soluciones con concentraciones más bajas. Clegg y Cols. Afirman que la única concentración capaz de remover físicamente la capa de biofilm y volver no viables las bacterias es el hipoclorito del sodio al 6% por su parte¹¹, Carson y Cols. estudiaron, in vitro, las zonas de inhibición bacteriana de varias soluciones y llegaron a la conclusión de que la solución de hipoclorito al 6% es más efectiva que al 3%¹². Spano y Cols. encontraron que la solución al 5% disuelve los tejidos pulpaes necróticos más rápido que la solución al 2,5%¹³. Sin embargo, tanto Siqueira y Cols. encontraron que la concentración de la solución de hipoclorito de sodio no es tan importante como el cambio constante de la solución y el uso en cantidades significativas.

¹⁰ Estrela C, Estrela CRA, Barbin EL, Spanó JL, Marchesan MA, Pécora JD. Mechanism of action of Sodium Hypochlorite. *Braz Dent J* 2002;13 (2): 113-117

¹¹ Clegg MS, Vertucci FJ, Walker C, Belanger M, Britto LR. The Effect of Exposure to Irrigant Solutions on Apical Dentin Biofilms in Vitro. *J Endodon* 2006. 31(6):471-473

¹² Carson KR, Goodell GG, McClanahan SB. Comparison of the Antimicrobial Activity of Six Irrigants on Primary Endodontics Patogens. *J Endodon* 2005; 31(6): 471-473

¹³ Spano JC, Barbin EL, Santos TC, Guimaraes LF, Pecora JD. Solvent action of sodium Hypochlorite on bovine pulp and physico-chemical properties of resulting liquid. *Braz Dent J* 2001; 12: 154-157

La temperatura es un factor importante, ya que si ésta aumenta, la acción del hipoclorito de sodio se incrementa de manera significativa. Sirtes y Cols (21) encontraron que el calentamiento del hipoclorito de sodio aumenta bastante la capacidad antibacteriana y de disolución de tejidos, concluyeron que la solución de hipoclorito de sodio al 1% a 45°C es tan efectiva como la solución al 5,25% a 20°C. Otro factor que aumenta la eficacia del hipoclorito de sodio es la utilización de ultrasonido en conjunto con la solución.

El hipoclorito de sodio es una solución alcalina que posee un pH de aproximadamente 11,6; es importante conservar esta alcalinidad. Spano y Cols.¹⁴ observaron que al disminuir el pH del hipoclorito de sodio de 11,6 a 9, con el consecuente cambio en el equilibrio químico con la formación de ácido hipocloroso, disminuyó la velocidad de disolución de tejidos en un rango importante.

Un factor importante a considerar relacionado con la utilización del hipoclorito de sodio es que con el paso del tiempo se pierde la concentración de cloro dependiendo del tipo de almacenamiento. Pécora y Cols. encontraron que la solución pierde un 4,6% de cloro cuando se almacena a temperatura ambiente durante 60 días y conforme aumenta el tiempo de almacenamiento también aumenta la pérdida de cloro.

¹⁴ Spano Ibid pág 154-157

El hipoclorito de sodio ha sido definido por la Asociación Americana de Endodoncistas como un líquido claro, pálido, verde-amarillento, extremadamente alcalino y con fuerte olor clorino, que presenta una acción disolvente sobre el tejido necrótico y restos orgánicos y además es un potente agente antimicrobiano.¹⁵

2.2.2 Factores que afectan las propiedades del Hipoclorito de Sodio

Tanto la temperatura, la concentración del hipoclorito de sodio, la luz, el aire, el tiempo y tipo de almacenamiento y el grado de pureza afectan la eficacia de la solución

Efectos de la temperatura

Al aplicar calor a una solución se aumenta la energía cinética de las moléculas, las cuales contactarán más rápido y producirán la desintegración de las superficies que contacten en un tiempo menor.

El aumento de la temperatura tiene un efecto positivo sobre la acción disolvente del NaOCl. Temperaturas de 35,5°C aumentan el poder solvente sobre tejidos necróticos y en tejidos frescos se obtiene el mayor efecto a 60°C.¹⁶

¹⁵ Glossary: American Association of Endodontics. Contemporary terminology for Endodontics. 7th ed. Chicago, 2003

¹⁶ Buck, R.A., Eleazer, PD. Effectiveness of three endodontic irrigants at various tubular depths in human dentin. J. of Endod 2001. 27(3): 206-208.

Cunningham et al. demostraron que el NaOCl al 5,25% y 2,6% eran igual de eficaces a una temperatura de 37°C. Sin embargo, a temperatura ambiente (21°C), la solución al 2,6% resultaba menos eficaz. El calentamiento de la solución aumenta su efecto bactericida, pero se debe tener precaución al calentarlo a 37°C, ya que se mantiene estable por no más de 4 horas antes de degradarse, por lo que no se recomienda recalentar la solución.

Gambarini refiere que se ha comprobado que al aumentar la temperatura se mejora el desbridamiento, las propiedades bactericidas y disolutorias y que este aumento no afecta la estabilidad química de la solución, aunque recomienda cierta precaución ya que no se sabe que daño puede causar a los tejidos periapicales.

Para calentarlo se pueden utilizar los calentadores de café, que mantienen una temperatura de 37°C, se coloca agua y posteriormente las jeringas con el hipoclorito de sodio.

Dilución

Algunos clínicos diluyen el NaOCl al 5,25% para reducir el olor o reducir el potencial de toxicidad a los tejidos periradiculares. La dilución del NaOCl al 5,25% disminuye significativamente la propiedad antimicrobiana, la propiedad de disolución del tejido y la propiedad de desbridamiento del sistema de conductos.¹⁷

¹⁷ Fraiss, S. Gulabivala, K. Some factors affecting the concentration of available chlorine in commercial sources of sodium hypochlorite. Int Endod J. 2001

La dilución del NaOCl al 5,25% aumenta el tiempo de exposición necesaria para destruir los microorganismos. Una dilución 1 a 1 hasta una concentración de 2,6% aproximadamente, triplica el tiempo de exposición necesaria para destruir las mismas bacterias. No se recomienda la dilución de NaOCl. Sin embargo, si se determina diluir el NaOCl no debe utilizarse una dilución mayor del 1 a 1 de la concentración al 5,25% con agua destilada estéril, ya que esta reducción al 2,6% produce una solución que es sólo ligeramente más eficaz que el agua o solución normal.

El NaOCl es más eficaz en la disolución de tejido vital desvitalizado y fijado al utilizarse en concentraciones de 5,25% que al 2,6, 1 y 0,5%.¹⁸

Grado de pureza

Los hipocloritos de acuerdo a su pureza química de extracción se clasifican de acuerdo a su porcentaje diferencial en: menos puros de 1 a 96% los cuales tienen mayor cantidad de contaminantes dañinos (plomo, arsénico, mercurio, bismuto, aluminio), entre ellos los de grado técnico (70%), industrial (60%) y doméstico (40-50%) y más puros de 96-100% como los de tipo pro-análisis (99-100%) y USP(98%) los cuales tienen apenas trazas de contaminantes. Por lo tanto, no es recomendable usar cloro casero o doméstico para irrigar durante el tratamiento de conductos radiculares.

¹⁸ García,G., Olivo, Ra., Ochoa, Ca. Complicaciones con el hipoclorito de sodio (NaOCL) al entrar en contacto con los tejidos periradiculares. *Univers Odont.* 2001. 21(45):26-29.

El Clorox tiene 60% de pureza y se incluye entre los hipocloritos de uso industrial y es el recomendado para la terapia endodóntica; los otros tienen una pureza de 40-50%, por lo cual se incluyen entre los hipocloritos de uso doméstico, éstos últimos no son muy recomendables.¹⁹

Aire, luz, tiempo y tipo de almacenamiento

Debido a que el hipoclorito de sodio es degradado por la luz, el aire, los metales y los contaminantes orgánicos, se cree que la pérdida de estabilidad química de la solución es un factor que puede alterar sus propiedades.

Todas las soluciones muestran degradación con el tiempo y ésta es más rápida en soluciones que contienen cloro al 5% cuando son almacenadas a temperaturas de 24°C que cuando se almacenan a 4°C.

Por otra parte, el contenido de cloro de las soluciones tiende a disminuir después que los envases se han abierto, por lo que se recomienda el uso de soluciones frescas o recientes.²⁰

Nicoletti et al refieren que la estabilidad química se altera en presencia de luz, ausencia de tapa y el tiempo en que la solución ha sido almacenada; igualmente refieren que los envases más recomendados son los de ámbar, seguidos de los de plástico opaco verde y blanco, donde este último ofreció la menor protección.²¹

¹⁹ Mérida Mérida H, Díaz M. Estudio con microscopio electrónico de barrido de la acción desinfectante de diez diferentes irrigantes sobre los conductos dentinarios. V Interamerican Electron Microscopy Congress, 2000, Porlamar, Isla de Margarita 31-32.

²⁰ Attin et al, El hipoclorito de sodio disuelve tejido necrótico, no tejido vital. Int Endod J. 2002

2.3 ENTEROCOCCUS FECAELIS

2.3.1 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.²²

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.

²² Yolken R. Editores. Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology 2002: 207-305

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.²³

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 esenciales limitados, leucocitos fagocíticos y otras defensas del hospedero. Todos estos factores ayudan a que se expresen genes que favorecen el crecimiento del microorganismo.²⁴

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

²³ 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

²⁴ Jett B, Huycke M. Gilmore M. Virulence of Enterococci. Clin Microbiol Rev. 1994;7 :462-478

ocurre entre factores que se encuentran en la membrana de numerosas bacterias Gram negativas y Gram positivas.²⁵

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.²⁶

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).

²⁵ Ibidem pág 462-478

²⁶ 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

2.3.2 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.²⁷

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.²⁸, evaluaron el pH necesario para inhibir su crecimiento y el

²⁷ Portenier I, Waltimo T. Haapasalo M. Op. Cit 135-139

²⁸ Mc Hugh C, Zhang P, Michalek S, Eleazer P. Op Cit p 218-219

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.²⁹

Nakajo et al ³⁰, en este mismo sentido, evaluaron las propiedades bioquímicas de *E. faecalis* que le confieren la resistencia ácido-alcalina, comparándola con 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

²⁹ Ibidem 218-219

³⁰ Nakajo K, et. al .Resistance to acidic and alkaline environments in the endodontic pathogen *Enterococcus faecalis*. *Oral Microbiol Immunol*. 2006; 21: 283-8.

proteínas formando una capa viscosa. La matriz representa generalmente el 85% del volumen de la biopelícula.³¹

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.³², 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.

Con relación a la capacidad antibacteriana de ciertos antibióticos sobre biopelículas formadas por *E. faecalis*, Lima et al.³³ 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

³¹ Portenier I, Waltimo T, Haapasalo M. Op. Cit 135-139

³² 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.

³³ Lima K, Fava L, Siqueira J. Susceptibilities of *Enterococcus faecalis* biofilms to some antimicrobial medications. *J Endod.* 2001; 27: 616-9.

natrozone al 2% en agua destilada, (4) clindamicina al 2%, sulfato sódico dietilen-glicol al 1,25% y natrozone al 2% en agua destilada, (5) gluconato de clorhexidina al 2%, óxido de zinc al 15%, sulfato sódico dietilen-glicol al 1,25% y natrozone al 2% en agua destilada y (6) clindamicina al 2%, metronidazol al 10%, sulfato sódico dietilen-glicol al 1,25% y natrozone 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.³⁴

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.³⁵

Existen tres hipótesis que pueden explicar la resistencia de estas biopelículas a los antibióticos. La primera hipótesis se refiere a la reducción o baja

³⁴ Lima K, Fava L, Siqueira J. Op Cit pág 616-619

³⁵ Lima K, Fava L, Siqueira J. Op Cit p 616-619

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.

2.3.3. 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.

Sundqvist y Figdor³⁶ 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

³⁶ Sundqvist G, Figdor D. Life as an endodontic pathogen. Ecological differences between the untreated and root-filled root canals. *Endod Topics*. 2003; 6: 3-28.

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.



3.- ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.-

3.1 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 faecalis* clasificado como un coco gran positivo

3.2 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 podría producir acción antimicrobiana contra las cepas de enterococcus faecalis usado como irrigante en tratamiento endodóntico

3.3 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 caesalpinia espinosa posee también efectos antiinflamatorios que podrían ser beneficiosos en el tratamiento de conductos

3.4 Título: *Efecto Antimicrobiano de la Caesalpinia spinosa (tara) y Tetraciclina frente al Bacillus Actino Mycetemcomitans. USMP. Lima, 2003.*

Autor: Garrido V, Heiddy.

Fuente: Biblioteca Central de la Universidad San Martín de Porres

Resumen:

Una comparación de la actividad antimicrobiana *in vitro* de la tetraciclina y la tara frente al microorganismo *Actinobacillus actinomycetemcomitans* mostró una mayor eficacia de esta última, al desarrollar mayores halos de inhibición al crecimiento bacteriano.

Análisis de enfoque:

Este estudio nos da referencia que la caesalpina espinosa tiene mayor efecto antimicrobiano que la tetraciclina que es un antibiótico de amplio espectro, por lo tanto podría dar buenos resultados en la obtención del halo inhibitorio microbiano.

3.5 Título: *Susceptibilities of Two Enterococcus faecalis Phenotypes to Root Canal Medications.*

Autor: Abdullah M, Gulabilava K, Moles D, Spratt D.

Fuente: Journal Endodontic. 2005

Resumen:

Se realizó la comparación de la acción antimicrobiana del NaOCL al 3% en fenotipos diferentes de E. Faecalis, como son una película y una suspensión planktónica. Cada una de las muestras fue expuestas en periodos de 1, 2, 4, 8, 15, 30 y 60 minutos. Los resultados señalan que el NaOCL fue capaz de lograr una reducción bacteriana al 100% cuando estuvo en contacto por 1 min en suspensión y 2 min en biopelícula.

Análisis de Enfoque

Este estudio nos da referencia que el NaOCL tiene efecto antimicrobiano sobre el E. Faecalis, además de darnos una pauta de periodos de evaluación de irrigantes endodónticos usualmente usados.

3.6 Título: *In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of Enterococcus faecalis.*

Autor: Gomes B, Ferraz C, Vianna M, Berber V, Teixeira F, Souza-Filho F.

Fuente: Int Endod J. 2001; 34: 424-428

Resumen

Se realizó la evaluación de la efectividad antimicrobiana del NaOCL en concentraciones de 0.5, 1, 2.5, 4 y 5.25% sobre E. Faecalis. El resultado del estudio indicó que la erradicación total de microorganismos fue inversamente proporcional a la concentración del mismo. Así el NaOCL al 5.25% erradicó en 15-30 segundos de contacto y a una concentración de 0.5% tardó 30 min.

Análisis de Enfoque

Este estudio nos da referencia en cuanto a la concentración ideal de NaOCL para eliminar con rapidez el E. Faecalis.

3.7 Título: *Remoción de Enterococcus Faecalis después de preparación rotatoria en irrigación con hipoclorito de sodio al 5% y gluconato de clorhexidina al 2% con/sin EDTA al 1.7%*

Autor: Espinel Pinzon Mercy, García Romero Diana, Olarte Collazos Adriana

Fuente: Univ. Odontol. 2009 Ene- Jun

Resumen

Se realizó el estudio sobre 30 premolares que fueron infectados por la cepa, colocándoles 4 combinaciones de NaOCL y EDTA. Los resultados obtenidos fueron que ninguna de las sustancias irrigadoras solas o combinadas con el quelante lograron la remoción completamente del E. Faecalis

Análisis de Enfoque

Este estudio nos da referencia que la Cepa del E. Faecalis puede ser resistente al Hipoclorito de Sodio. A pesar que en otros estudios, demuestra el gran poder antimicrobiano del NaOCL.



4.- OBJETIVOS

1. Medir el efecto de la caesalpinia espinosa al 60% en el halo inhibitorio del Enterococcus Faecalis.
2. Evaluar el efecto del hipoclorito de sodio al 5.25% en el halo inhibitorio del 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 el hipoclorito de sodio al 5.25% 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 Hipoclorito de Sodio al 5.25% en el halo inhibitorio de Enterococcus Faecalis.

III PLANEAMIENTO 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	TECNICA
Halo inhibitorio	Observación Microbiológica

Descripción de la Técnica

a. Obtención del extracto de *Caesalpinia Espinosa*

Las vainas secas fueron recolectadas y se procedió a separar las semillas de las vainas, posteriormente se molió las vainas obteniéndose un polvo fino, el cual se mezcló con alcohol de 96 grados en recipientes color caramelo, por 14 días, durante los cuales se procederá 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 fue 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) será preparado según las instrucciones del fabricante, se esterilizará y 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 16 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 sustancias a comparar, a razón de 24 muestras para Grupo Experimental: *Caesalpinia Espinosa* y 24

muestras para el Grupo Control: Hipoclorito de Sodio al 5.25%. 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
GE1	1-24	-----	X1	O1	O2	O3
GC0	1-24	-----	X2	O1	O2	O3

1.2 Instrumentos

a. Instrumento documental:

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

Estructura del Instrumento

VARIABLE	INDICADORES	SUB INDICADORES	ITEM
Halo	Diámetro del halo	24Hrs	(1.1)
Inhibitorio	Inhibitorio (mm)	48Hrs	(1.2)
		72Hrs	(1.3)

b. Instrumentos mecánicos:

Se utilizará:

Micropipeta automática

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

Tripode

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%

Algodón

Gasa

Papel craft

Jeringas de 10cc

Hipoclorito de Sodio al 5.25%

Papel toalla

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.-

La investigación se realizó en el ámbito general de Arequipa urbana. La obtención del extracto de Tara se realizó en el ámbito específico de los Laboratorios de la Universidad Católica de Santa María, así como los cultivos de *Enterococcus Faecalis*, junto con la evaluación microbiológica.

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

Los Grupos serán distribuidos en las placa petri, en razón a 24 muestras para cada uno de los grupos; Grupo experimental: *Caesalpinia Espinosa* al 60%, grupo control: Hipoclorito de Sodio al 5.25%

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 Hipoclorito de Sodio al 5.25%

Hipótesis Alternativa: Es probable que la solución de Caesalpinia Espinosa al 60% posea efecto antimicrobiano mayor que el Hipoclorito de Sodio al 5.25%

Se determinó, el tamaño mínimo muestral para un ensayo clínico, mediante la siguiente fórmula:

Determinación de las muestras. Estudio experimental
comparativo de variable cuantitativa de

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

$$n = 2 \left[\frac{(1.96 - (-0.84))2.45}{10 - 12} \right]^2$$

$$n = 24 \text{ muestras por grupo}$$

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.

24 muestras para Grupo Experimental (Caesalpinia Espinosa)

24 muestras para Control (Hipoclorito de Sodio)

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

3.2 Recursos.-

3.2.1. Recursos Humanos.-

Investigador: Mg. Vanessa Bornaz Arenas

Colaborador: Dr. Gustavo Obando Pereda

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.-

Se realizó una matriz de Sistematización de registro y control de datos, al cual se le dio una codificación numérica mediante etiquetas. Se realizó el recuento de los datos mediante matrices de conteo. El Tipo de sistematización es informatizado con paquete estadístico STATTA y programa de hoja de cálculo EXCEL. Se realizó cuadros de numéricos de triple entrada para la tabulación y se realizó la graficación respectiva.

4.2 Plan de análisis de datos.-

a. Tipo de análisis

Para la determinación de la normalidad de los Datos se utiliza las pruebas estadísticas de Kolmogorov- Smirnov Shapiro- Wilk

Por la naturaleza del estudio es cuantitativo, cuyo tratamiento estadístico se presenta a continuación:

T STUDENT

Variable Investigativa	Indicadores	Carácter Específico	Escala de Medición	Técnica de Estadística Descriptiva	Técnica de Estadística Inferencial
Halo Inhibitorio de Enterococcus Faecalis	Diámetro del Halo Inhibitorio	Cuantitativo	De razón	Medidas de Tendencia Central Medidas de Dispersión	Kolmogorov-Smirnov Shapiro- Wilk 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 entre otros para el uso de esta sustancia natural.

IV CRONOGRAMA DE TRABAJO

TIEMPO ACCIONES	AGOSTO				SETIEMBRE				OCTUBRE				NOVIEMBRE				DICIEMBRE	
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	X	X																
ASESORÍA METODOLÓGICA			X															
PRESENTAR PROTOCOLO				X														
OBSERVACIONES					X	X												
RECOLECCIÓN DE DATOS							X	X	X	X	X	X						
PROCESAMIENTO DE LOS DATOS													X	X				
ESTRUCTURACIÓN DE LOS RESULTADOS													X	X				
REDACCIÓN INFORME FINAL															X	X		
SUSTENTACIÓN																		X



INSTRUMENTO: FICHA DE OBSERVACION DE HALO INHIBITORIO

GRUPO	Nro	PRETEST	POSTEST		
			HALO INHIBITORIO (mm)		
			24Hrs	48Hrs	72Hrs
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 HIPOCLORITO DE SODIO AL 5.25%	1	----			
	2	----			
	3	----			
	4	----			
	5	----			
	6	----			
	7	----			
	8	----			
	9	----			
	10	----			
	11	----			
	12	----			
	13	----			
	14	----			

	15	----			
	16	----			
	17	----			
	18	----			
	19	----			
	20	----			
	21	----			
	22	----			
	23	----			
	24	----			







Tara en Vainas



Tara en vainas sin semillas



Tara Mezclada con Alcohol de 96°



Filtrado de Tara con papel filtro paso lento



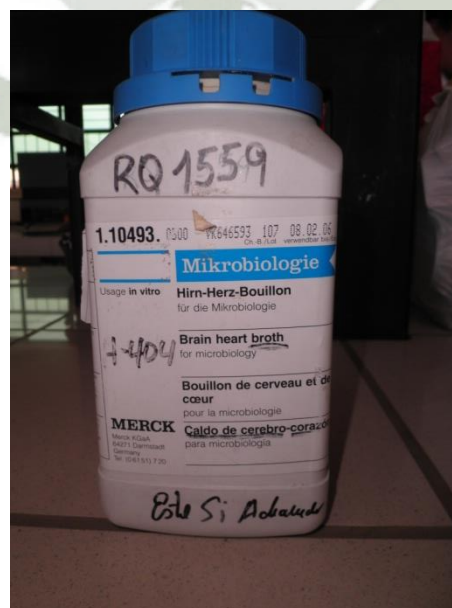
Vaporización del Alcohol



Dilución Del Extracto de Tara al 60%



Extracto de Tara



Caldo Cerebro Corazón (BHI)



Preparación del Caldo Cerebro Corazón



Cepa Latente Enterococcus Faecalis



Reactivación de la cepa



Cámara de Anaerobiosis



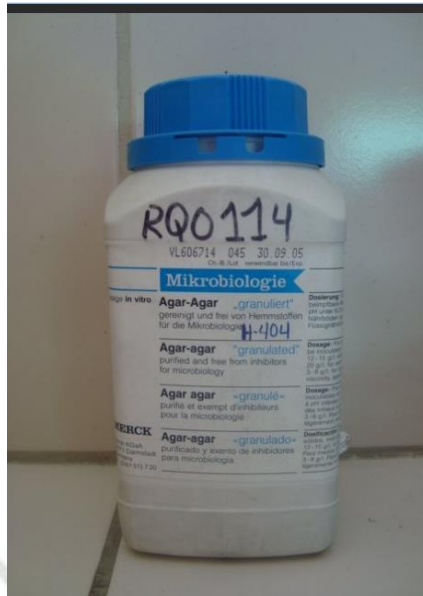
Caldo de Cultivo a lãs 24 Hrs



Espectrofotometro



Espectrofotometría



Agar Agar



Agar y Agua Destilada



Preparación Del Agar



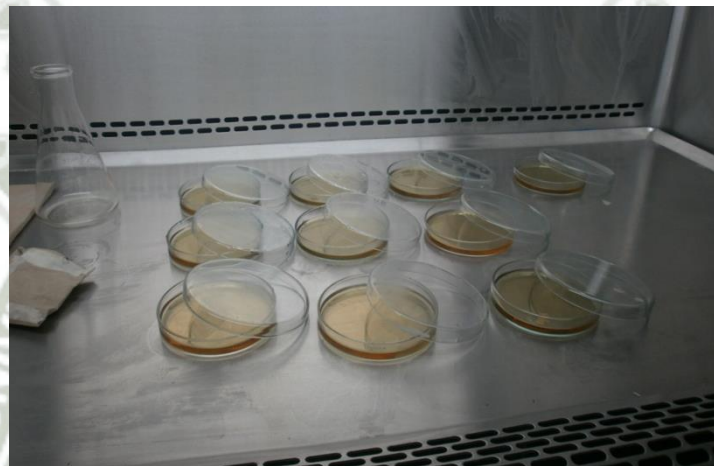
Homogenización Del Agar



Esterilización Del Agar



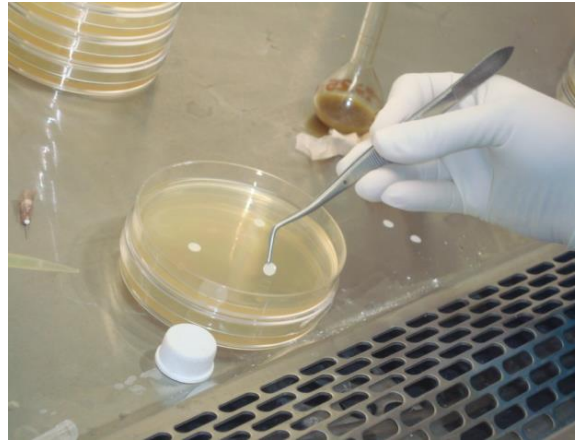
Material de Trabajo en Cámara de Bioseguridad



Plaqueado



Preparación de Sensidiscos con Hipoclorito de Sodio



Colocado de Sensidiscos con Hipoclorito de Sodio en Placas Petri



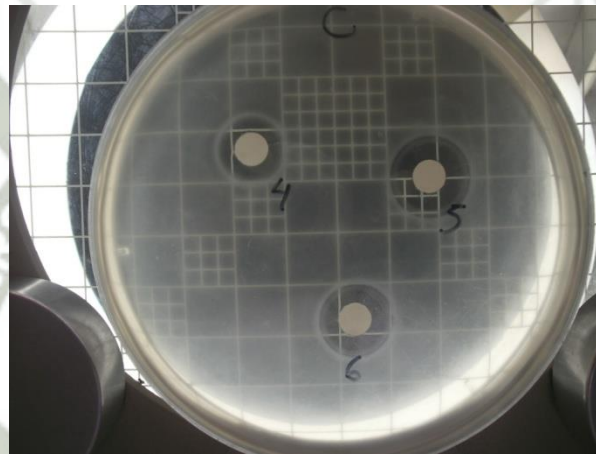
Preparación de Sensidiscos con Caesalpinia Espinosa



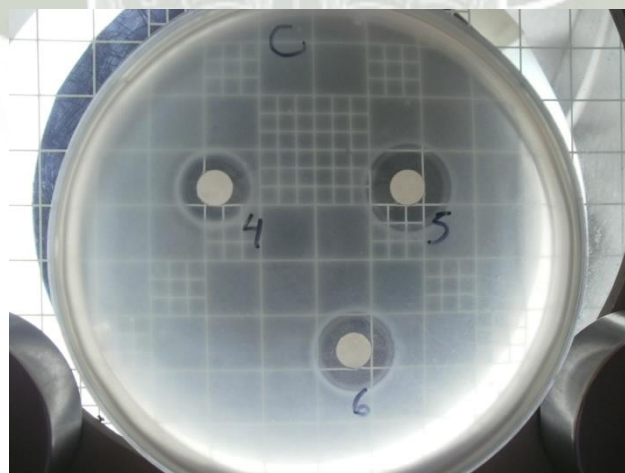
Rotulado



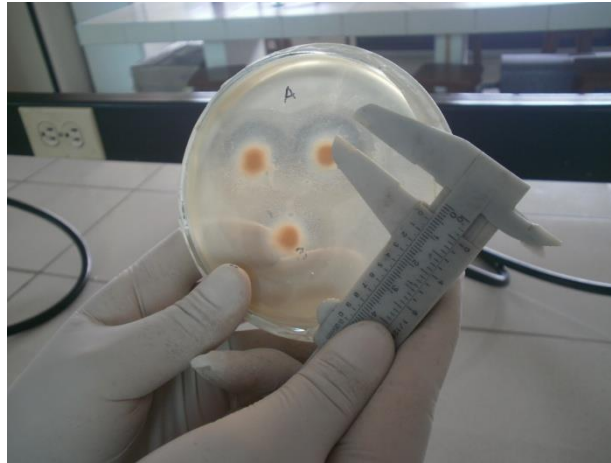
Toma de medidas Hipoclorito de Sodio 24 horas



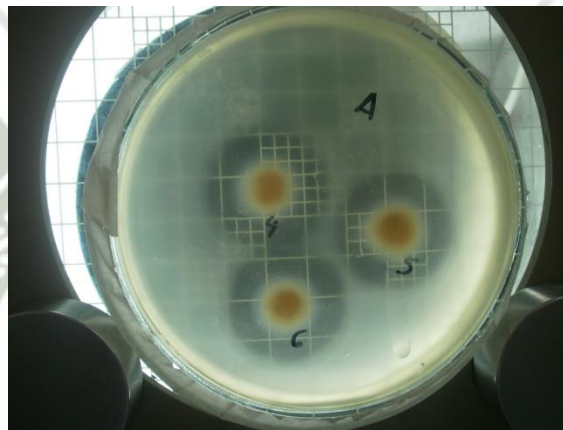
Hipoclorito de Sodio 48 horas



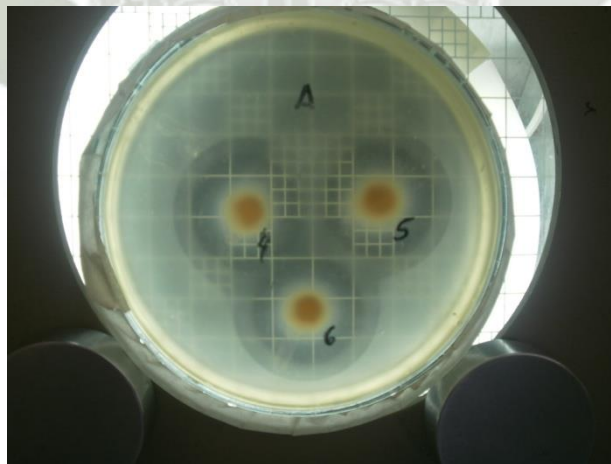
Hipoclorito de Sodio 72 horas



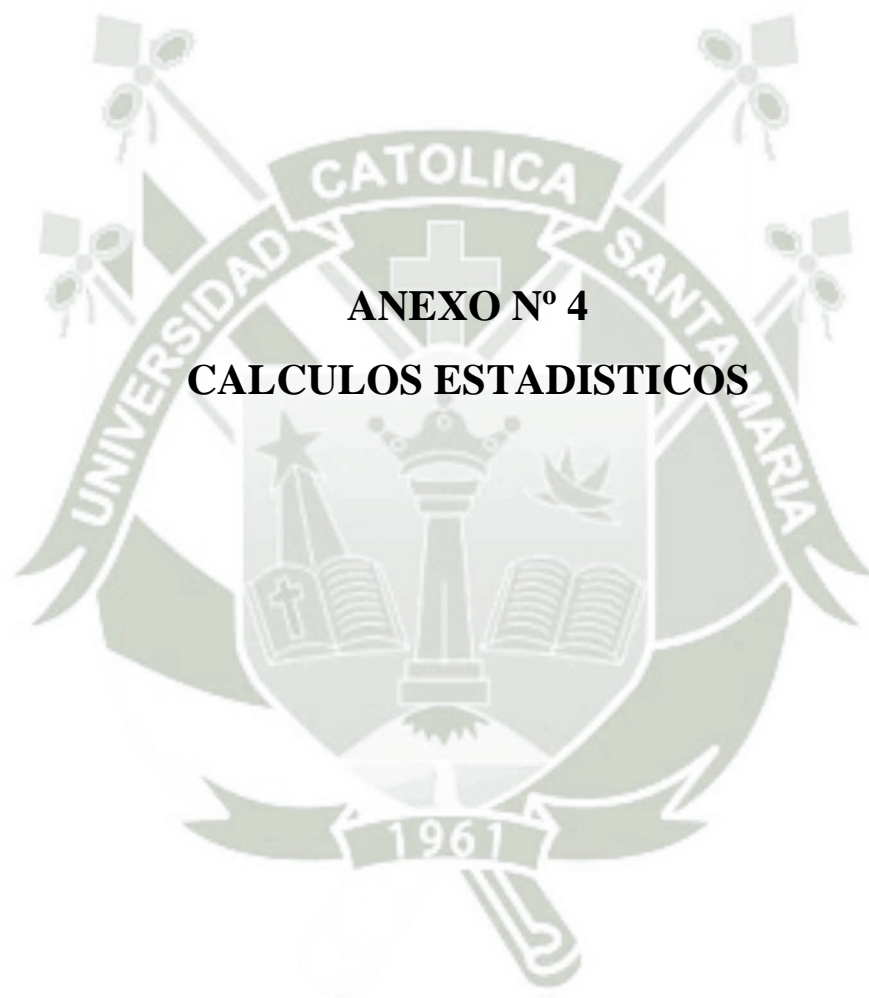
Toma de medidas Caesalpinia Espinosa



Medida Caesalpinia Espinosa 24 horas



Medida Caesalpinia Espinosa 72 horas



ANEXO N° 4
CALCULOS ESTADISTICOS

**COMPROBACIÓN DE LA NORMALIDAD DE LAS MUESTRAS DEL GRUPO
EXPERIMENTAL CAESALPINIA ESPINOSA**

Test de Normalidad

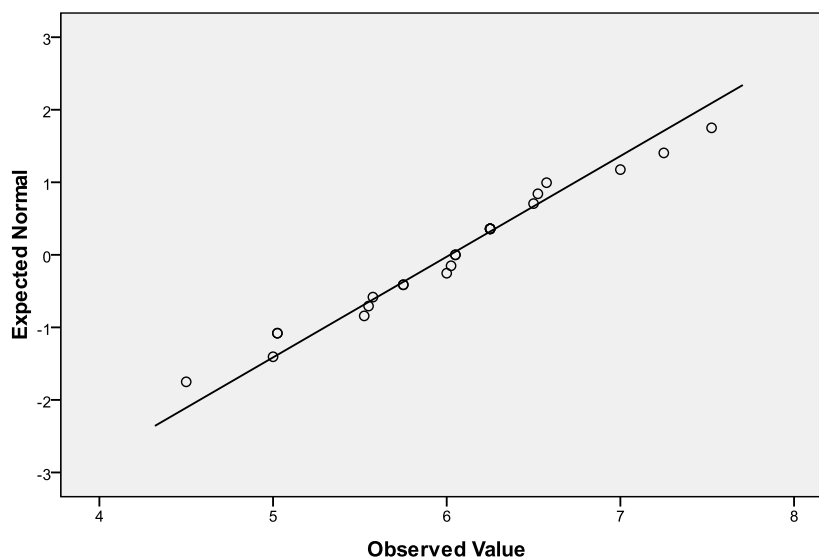
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	df	Sig.	Estadístico	df	Sig.
dia1	0,124	24	0,200*	0,974	24	0,776
dia2	0,140	24	0,200*	0,953	24	0,310
dia3	0,127	24	0,200*	0,962	24	0,486

a. Corrección de la significancia del método Lilliefors

*. This is a lower bound of the true significance

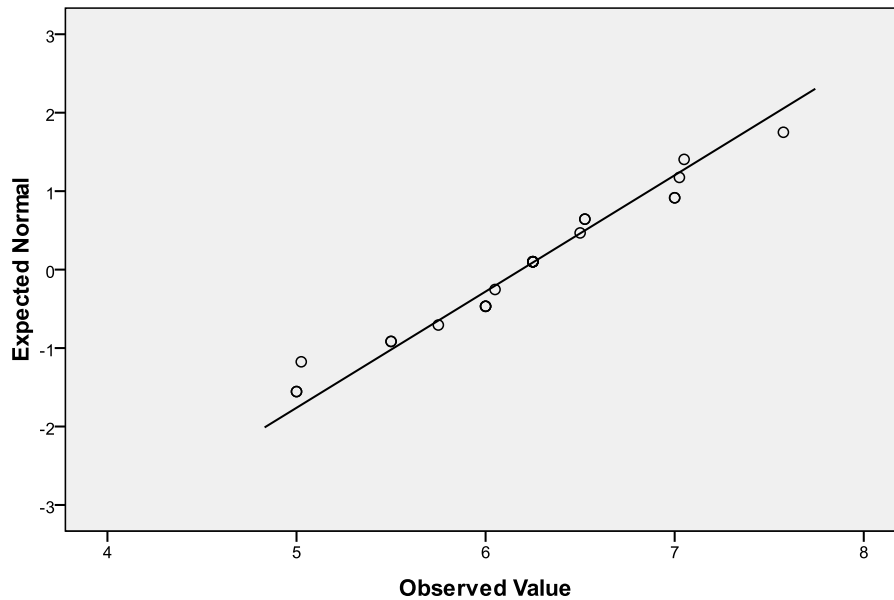
TEST DE NORMALIDAD CAESALPINIA ESPINOSA DIA 1

Normal Q-Q Plot of dia1



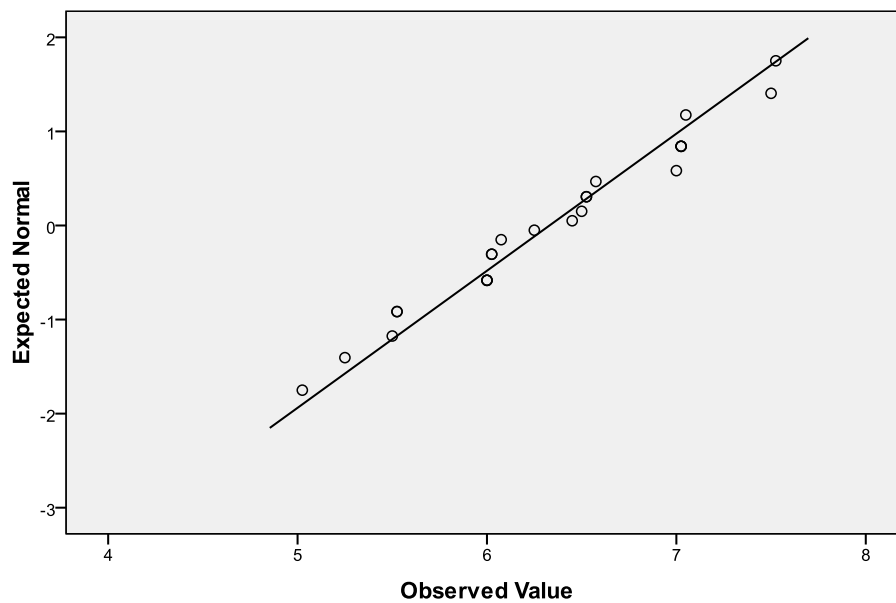
TEST DE NORMALIDAD CAESALPINIA ESPINOSA DIA 2

Normal Q-Q Plot of dia2



TEST DE NORMALIDAD CAESALPINIA ESPINOSA DIA 3

Normal Q-Q Plot of dia3



**COMPROBACIÓN DE LA NORMALIDAD DE LAS MUESTRAS DEL GRUPO
CONTROL HIPOCLORITO DE SODIO**

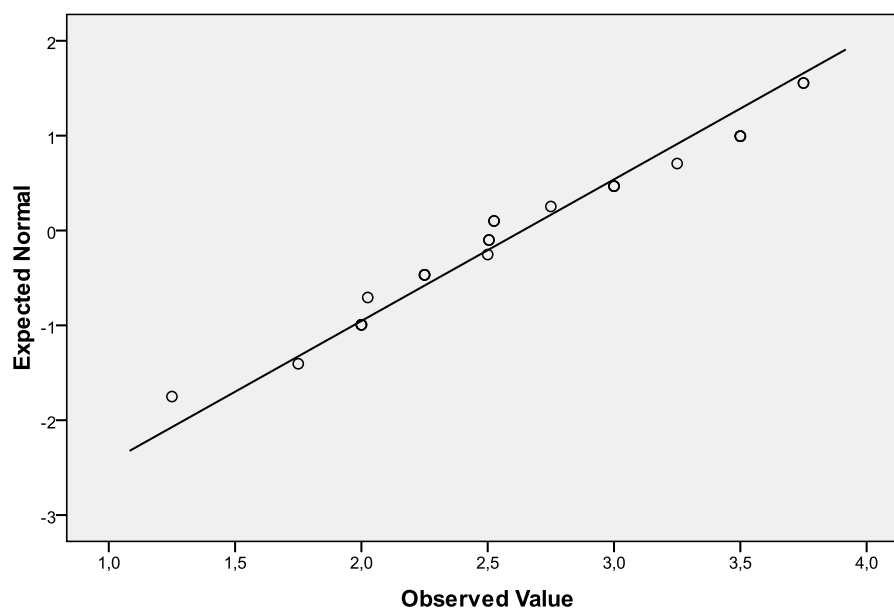
Test de Normalidad

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
dia1	0,151	24	0,167	0,958	24	0,393
dia2	0,170	24	0,070	0,921	24	0,060
dia3	0,153	24	0,152	0,942	24	0,185

a. Lilliefors Significance Correction

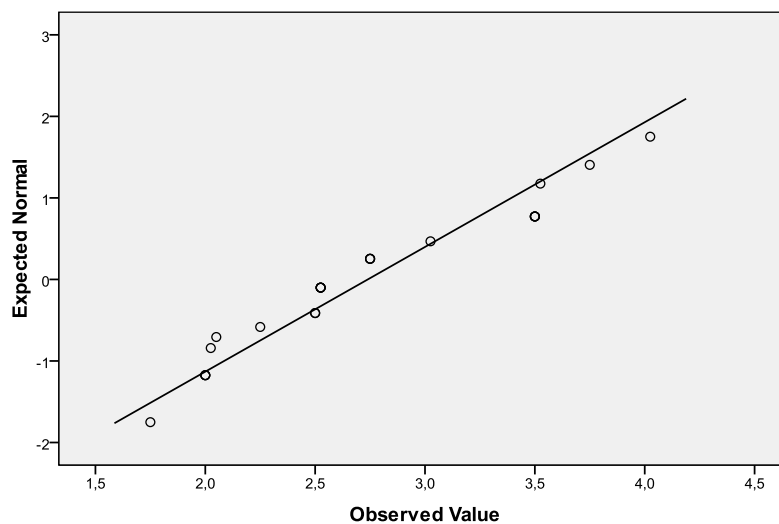
TEST DE NORMALIDAD HIPOCLORITO DE SODIO DIA 1

Normal Q-Q Plot of dia1



TEST DE NORMALIDAD HIPOCLORITO DE SODIO DIA 2

Normal Q-Q Plot of dia2



TEST DE NORMALIDAD HIPOCLORITO DE SODIO DIA 3

Normal Q-Q Plot of dia3

