

**Universidad Católica de Santa María**  
**Facultad de Odontología**  
**Segunda Especialidad en Cariología y Endodoncia**



**“EFECTO IN VITRO DEL HIDROXIDO DE CALCIO CON CLORHEXIDINA  
AL 2.5% Y HIDROXIDO DE CALCIO CON AGUA DESTILADA SOBRE LA  
ABSORBANCIA DE BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS EN EL  
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA , UCSM ,AREQUIPA - 2017”**

**Tesis Presentado por la Cirujano Dentista  
Juárez Suero, Ana Maritza**

**Para optar el Título Profesional de Segunda  
Especialidad en:  
Cariología y Endodoncia**

**Asesor: Dr. CD. Salas Beltrán, Enrique Hair**

**AREQUIPA – PERÚ  
2019**

UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA  
URB. SAN JOSE S/N - UMACOLLO

MGTER CARLOS QUIROZ HUERTA

**BOLETA DE DICTAMEN DE BORRADOR DE TESIS Nro 2**

Vista la solicitud que presenta don (ña JUAREZ SUERO ANA MARITZA sobre el dictamen de la Tesis titulada "EFECTO DEL HIDROXIDO DE CALCIO CN Y SIN CLORHEXIDINA SOBRE LA ABSORVANCIA DE BIOFILM DE ENTEROCOCUS FAECALIS IN VITRO, UCSM 2016" 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 el JURADO DICTAMINADOR para que en el lapso de ocho a diez días, se sirvan evaluar el dictamen correspondiente

DR LARRY ROSADO LINARES  
MGTER CARLOS QUIROZ HUERTA  
DR MARCOS ZEVALLOS CHAVEZ

Arequipa, 8 de ENERO del 2018

UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARÍA  
  
Dr. MARTIN LARRY ROSADO LINARES  
Decano de la Facultad de Odontología

INFORME

Se Recibe de la Facultad de Odontología,  
Una ley sencilla las ecuaciones indicadas tanto  
en el Plantamiento Técnico, Mantecando Derivación  
y Resultados del parate llevado de tesis, presentada por  
De Pate, Bárbara Tjany Suero Ana, Maritza.  
Se da por par la sustentación.  
Dictamen: FAVORABLE.

El título mencionado es: "Efecto In vitro del  
hidroxido de calcio con clorhexidina al 2.5% y  
hidroxido de calcio con Agua destilada sobre la Absorbancia  
de Bacterias de Enterococcus Faecalis en el laboratorio de  
Microbiología. UCSM. Programa - 2017" M.A.  
Arequipa, 2018 Agosto 25.

2161

UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA  
URB. SAN JOSE S/N - UMACOLLO

DR MARCOS ZEVALLOS CHAVEZ

**BOLETA DE DICTAMEN DE BORRADOR DE TESIS Nro 2**

Vista la solicitud que presenta don (ña JUAREZ SUERO ANA MARITZA sobre el dictamen de la Tesis titulada "EFECTO DEL HIDROXIDO DE CALCIO CN Y SIN CLORHEXIDINA SOBRE LA ABSORVANCIA DE BIOFILM DE ENTEROCOCUS FAECALIS IN VITRO, UCSM 2016" 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 el JURADO DICTAMINADOR para que en el lapso de ocho a diez días, se sirvan evaluar el dictamen correspondiente

DR LARRY ROSADO LINARES  
MGTER CARLOS QUIROZ HUERTA  
DR MARCOS ZEVALLOS CHAVEZ

Arequipa, 8 de ENERO del 2018

UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARÍA  
  
Dr. MARTÍN LARRY ROSADO LINARES  
Decano de la Facultad de Odontología

INFORME

- Corregir los antecedentes
- Mejorar Redacción
- Precisar la discusión
- Comentar que los procesos de laboratorio sean verídicos

Vistos los correcciones se da por  
aprobado el Borrador y se da  
pase a la sustentación

Estoy de acuerdo con la modificación de título sugerido por el  
Doctor Carlos Quiroz Huerta

Arequipa, 2017 27/03/2018

UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA  
JRB. SAN JOSE S/N - UMACOLLO

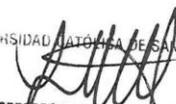
**DR LARRY ROSADO LINARES**

**BOLETA DE DICTAMEN DE BORRADOR DE TESIS Nro 2**

Vista la solicitud que presenta don (ña **JUAREZ SUERO ANA MARITZA** sobre el dictamen de la Tesis titulada **“.EFECTO DEL HIDROXIDO DE CALCIO CN Y SIN CLORHEXIDINA SOBRE LA ABSORVANCIA DE BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS IN VITRO, UCSM 2016”** 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 el JURADO DICTAMINADOR para que en el lapso de ocho a diez días, se sirvan evaluar el dictamen correspondiente

**DR LARRY ROSADO LINARES**  
**MGTER CARLOS QUIROZ HUERTA**  
**DR MARCOS ZEVALLOS CHAVEZ**

Arequipa, 8 de ENERO del 2018

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA  
  
Dr. MARTIN LARRY ROSADO LINARES  
Decano de la Facultad de Odontología

INFORME

*Sr. Decano:*

*Habiendo recibido el presente Borrador de Tesis  
Dugiero corregir pag. 3, 41-47-48, 54, 56, 108  
mejorar anexos.*

*Habiendo realizado las correcciones, el presente  
Borrador de Tesis cuenta CON MI OPINION  
FAVORABLE!*

*Estoy de acuerdo con la modificación del Título  
pugnado por el Dr. Carlos Quiroz Huerta*

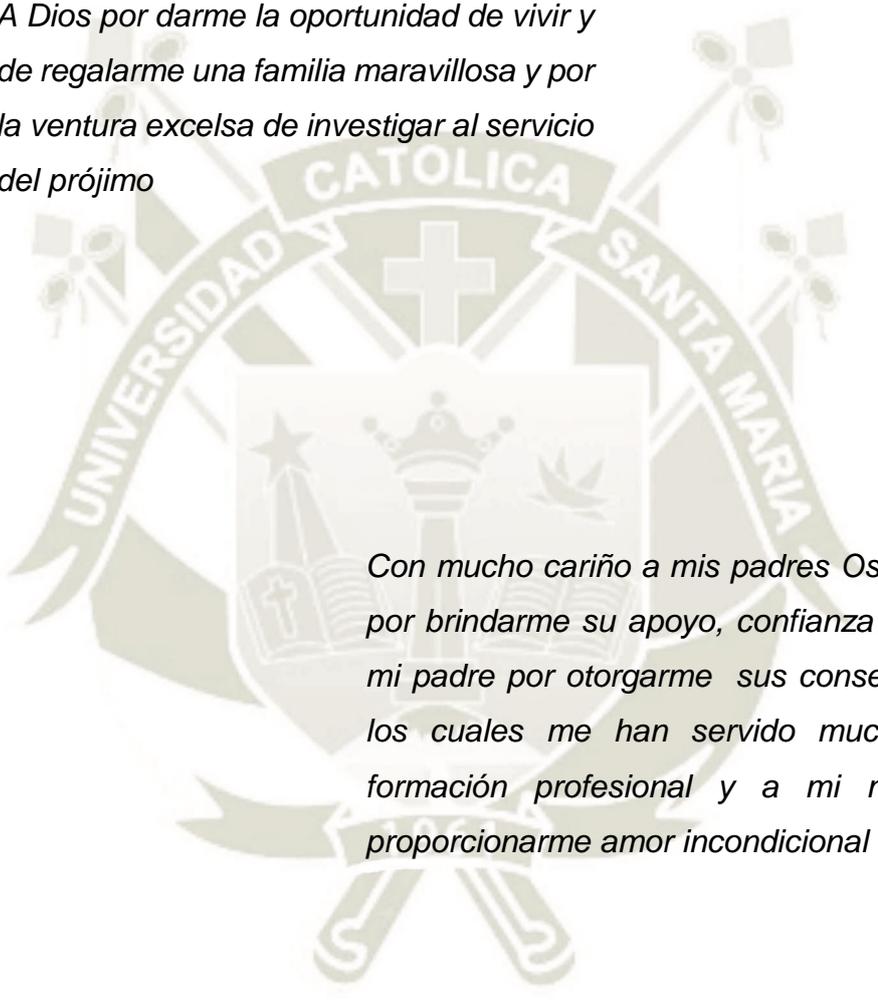
*ALL/10-01-18*



Arequipa, 2018 Enero 12.

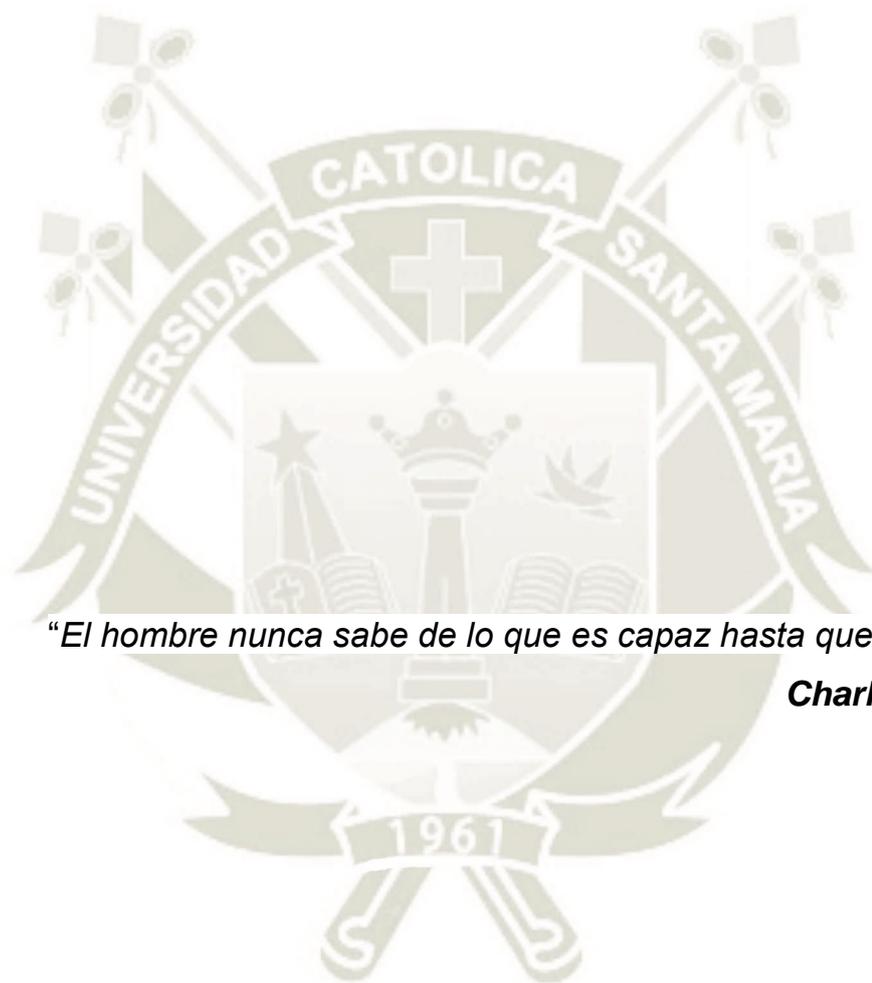
## DEDICATORIA

*A Dios por darme la oportunidad de vivir y de regalarme una familia maravillosa y por la ventura excelsa de investigar al servicio del prójimo*



*Con mucho cariño a mis padres Oscar y Ana por brindarme su apoyo, confianza y amor .A mi padre por otorgarme sus consejos sabios los cuales me han servido mucho en mi formación profesional y a mi madre por proporcionarme amor incondicional*

*A mi hermana Yakeline Rosario por estar siempre a mi lado brindándome su apoyo*



*“El hombre nunca sabe de lo que es capaz hasta que lo intenta.”*

**Charles Dickens**

## ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	
RESUMEN	
ABSTRACT	
CAPITULO I .....	1
PLANTEAMIENTO TEÓRICO.....	1
1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN .....	2
1.1 Determinación del Problema .....	2
1.2 Enunciado.....	2
1.3 Descripción.....	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
2. OBJETIVOS .....	5
3. MARCO CONCEPTUAL .....	6
3.1. Medicación Intraconducto .....	6
3.1.1. Definición .....	6
3.1.2. Consideraciones para elegir un medicamento intraconducto .....	6
3.1.3. Indicaciones para utilizar un medicamento intraconducto .....	7
3.1.4. Objetivos de la medicación intraconducto.....	7
3.1.5. Tipos de medicación .....	8
3.1.6.1 Definición:.....	10
3.1.6.2 Propiedades del hidróxido de calcio .....	12
3.1.6.3. Usos de hidróxido de calcio .....	13
3.1.6.4 Propiedades Químicas del hidróxido de calcio .....	14
• Efecto del ion calcio .....	15
• Efecto del ion hidroxilo.....	16
3.1.6.6 Técnica de uso .....	17
3.1.6.6 Tiempo de permanencia .....	18

3.1.7	Gluconato de clorhexidina.....	19
3.1.7.1	Antecedentes Históricos .....	19
3.1.7.2	Definición:.....	20
3.1.7.3	Propiedades del gluconato de clorhexidina .....	21
3.1.7.5	Desventajas del gluconato de clorhexidina.....	22
3.1.7.6	Mecanismo de acción.....	22
3.1.8	Interacción entre el hidróxido de calcio y clorhexidina .....	23
3.1.9	Biofilm.....	24
3.1.9.1	Definición.....	24
3.1.9.2.	Morfología del biofilm .....	25
3.1.9.3.	Formación y evolución de Biofilm.....	25
3.1.9.4	Evolución del Biofilm .....	27
3.1.9.5	Mecanismos de defensa del Biofilm.....	28
3.1.9.6	Tipos bacterianos que forman El Biofilm.....	29
3.1.9.7	Localización del Biofilm.....	29
3.1.9.8	Enterococcus Faecalis .....	30
4	ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	34
5	HIPÓTESIS .....	39
	CAPITULO II .....	40
	PLANTEAMIENTO OPERACIONAL.....	40
1.	TÉCNICAS, INSTRUMENTOS DE VERIFICACIÓN .....	41
1.1	Técnica.....	41
1.2	Instrumentos.....	45
1.2.1.	Instrumento documental.....	45
1.3	Instrumentos Mecánicos .....	47
1.4	Materiales .....	47
2.	CAMPO DE VERIFICACIÓN.....	48
2.1	Ubicación Espacial .....	48
2.2	Ubicación temporal .....	48
2.3	Unidades de estudio .....	48
3.	ESTRATEGIAS DE RECOLECCIÓN.....	50
3.1	Organización .....	50
3.2	Recursos.....	50
3.2.1	Recursos Humanos.....	50

3.2.2	Recursos Físicos .....	50
3.2.3	Recursos Económicos .....	50
3.2.4	Recursos Institucionales .....	50
3.3	Validación del documento .....	51
4.	ESTRATEGIA DE MANEJO DE RESULTADOS .....	51
4.1	Plan de Procesamiento .....	51
4.2	Plan de análisis.....	51
CAPITULO III .....		54
RESULTADOS.....		54
DISCUSIÓN .....		95
CONCLUSIONES.....		102
RECOMENDACIONES .....		104
ANEXOS.....		111
ANEXO N° 1: MATRIZ DE REGISTRO DE DATOS.....		112
ANEXO N° 2: DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO DE MUESTRA.....		113
ANEXO N° 3: TRATAMIENTO ESTADÍSTICO .....		114
ANEXO N° 4: MATRIZ DE REGISTRO Y CONTROL DE DATOS .....		116
ANEXO N° 5: CONSTANCIA DE REALIZACIÓN DE TRABAJO DE LABORATORIO.....		117
ANEXO N° 6: CONSTANCIA DE HABER REALIZADO EL PROYECTO DE TESIS EN EL LABORATORIO .....		118
ANEXO N° 7: SECUENCIA FOTOGRÁFICA .....		119

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1 COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE EL HIDRÓXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5% Y HIDRÓXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 1 MINUTO DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA 2017.....	55
TABLA N° 2 COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE EL HIDRÓXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5% Y LA MUESTRA DE AGUA DESPUÉS DE 1 MINUTO DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS , AREQUIPA 2017.....	59
TABLA N° 3 COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE EL HIDRÓXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA Y LA MUESTRA DE AGUA DESPUÉS DE 1 MINUTO DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA 2017.....	62
TABLA N° 4 COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE EL HIDRÓXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5%, HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA Y AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 5 MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA 2017.....	65
TABLA N° 5 COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE EL HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5% Y MUESTRA CONTROL DE AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 5 MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS , AREQUIPA 2017.....	69
TABLA N° 6 COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE EL HIDRÓXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA Y LA MUESTRA CONTROL DESPUÉS DE 5 MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA 2017.....	72
TABLA N° 7 COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE EL HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5% , HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA Y AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 15 MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA 2017.....	75
TABLA N° 8 COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE EL HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5% Y MUESTRA CONTROL DE AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 15 MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS , AREQUIPA 2017.....	79
TABLA N° 9 COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE EL HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA Y LA	

MUESTRA CONTROL DE AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 15 MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS , AREQUIPA 2017..... 82

TABLA N° 10 COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA DEL HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5% AL 1 MINUTO, 5 MINUTOS Y 15 MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA 2017..... 85

TABLA N° 11 COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA DEL HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA 2.5% AL 1 MINUTO ,5 MINUTOS Y 15 MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS , AREQUIPA 2017..... 88

TABLA N° 12 COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) PROMEDIO ENTRE EL HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA Y HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 1 MINUTO, 5 MINUTOS Y 15 MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS , AREQUIPA 2017..... 91



## ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO N° 1 COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE EL HIDRÓXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5% Y HIDRÓXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 1 MINUTO DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA 2017.....	58
GRÁFICO N° 2 COMPARACIÓN DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE EL HIDRÓXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5% Y LA MUESTRA DE AGUA DESPUÉS DE 1 MINUTO DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS , AREQUIPA 2017.....	61
GRÁFICO N° 3 COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE EL HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA Y LA MUESTRA DE AGUA DESPUÉS DE 1 MINUTO DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS , AREQUIPA 2017.....	64
GRÁFICO N° 4 COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE EL HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5% , HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA Y AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 5 MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA 2017.....	68
GRÁFICO N° 5 COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE EL HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5% Y MUESTRA CONTROL DE AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 5 MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA 2017.....	71
GRÁFICO N° 6 COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE EL HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA Y MUESTRA CONTROL DESPUÉS DE 15 MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS , AREQUIPA 2017.....	74
GRÁFICO N° 7 COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE EL HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5% Y HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 15 MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS , AREQUIPA 2017.....	78
GRÁFICO N° 8 COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE EL HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5% Y MUESTRA CONTROL DE AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 15 MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA 2017.....	81
GRÁFICO N° 9 COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE EL HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA Y LA	

MUESTRA CONTROL DE AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 15 MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA 2017.....	84
GRÁFICO N° 10 COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE EL HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5% Y HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 1 MINUTO ,5 MINUTOS Y 15 MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA 2017.....	87
GRÁFICO N° 11 COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA DEL HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA 2.5% AL 1 MINUTO ,5 MINUTOS Y 15 MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS , AREQUIPA 2017.....	90
GRÁFICO N° 12 COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) PROMEDIO ENTRE EL HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA AL 2.5% Y HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 1 MINUTO , 5 MINUTOS Y 15 MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS , AREQUIPA 2017.....	93
GRÁFICO N° 13 COMPARACIÓN DE LA ABSORBANCIA (NM) PROMEDIO ENTRE EL HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA AL 2.5% Y HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 1 MINUTO , 5 MINUTOS Y 15 MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS , AREQUIPA 2017.....	94

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años la endodoncia ha revolucionado de manera acelerada haciéndola cada vez más sencilla y de corto tiempo con el único objetivo de preservar la mayor cantidad de tejido dentario y de esa manera conservar el diente por más tiempo en la boca del paciente. Antes hacer una endodoncia era una odisea y era considerada una de las especialidades de mayor dificultad por la anatomía de los conductos que era lo más parecido a laberintos sin salida ocasionando muchas veces el fracaso de las mismas por la falta de instrumentación de aquellos conductillos que se quedaban sin instrumentar por la inaccesibilidad de los mismos y que facilitaba al crecimiento bacteriano adhiriéndose en la superficie dentinaria recubiertos con una capa lipofílica formando colonias estructurales que evitaban que la medicación tradicional funcionara y pudiera erradicar las lesiones crónicas..

Esto ocasionó que muchos profesionales odontólogos se dedicaran a investigar diversas maneras para poder erradicar dichas colonias determinando que las únicas maneras de hacerlo innovando nuevas técnicas de instrumentación, mejorando las cualidades de los irrigantes y repotenciando los medicamentos intraconducto entre sesiones para fortalecer la capacidad bactericida y mejorar la biocompatibilidad haciendo materiales menos dañinos para el tejido periradicular .

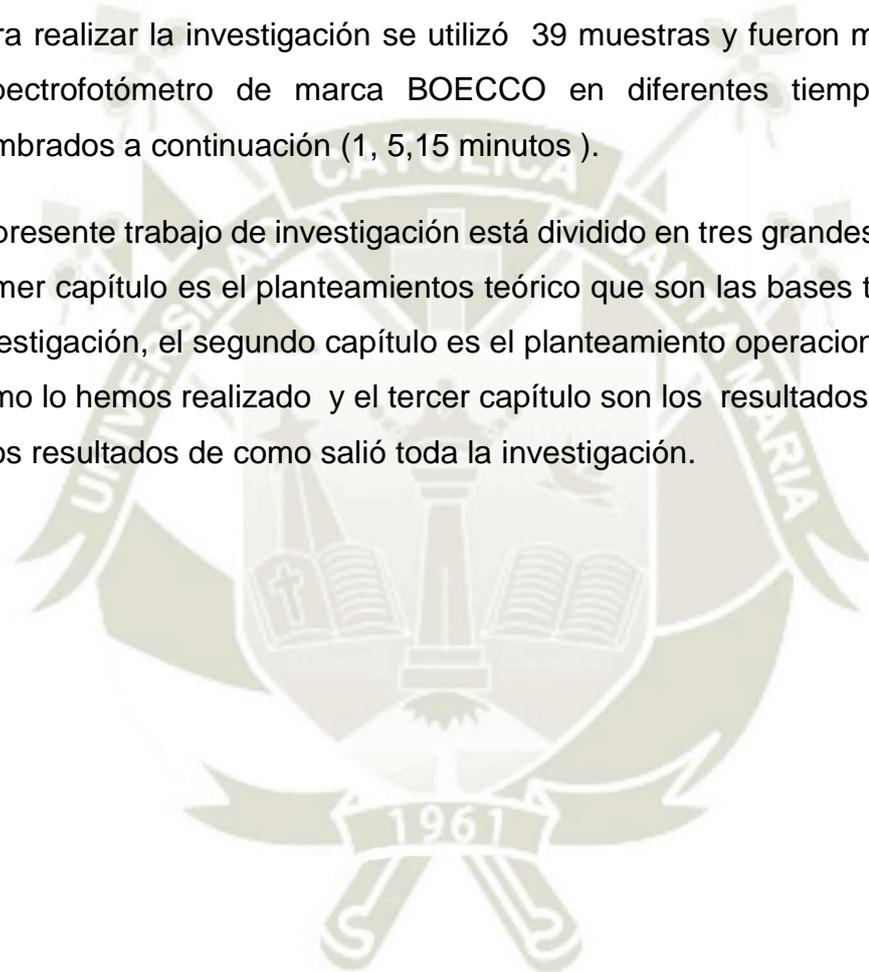
Es por eso que en la actualidad la mayoría de las investigaciones buscan implementar materiales biocompatibles y versátiles que puedan ser utilizados de diferentes maneras como la clorhexidina que es utilizado como irrigante y como complemento de la medicación intraconducto gracias a la característica que presenta que es llamada sustantividad y que es asociándolo con el hidróxido de calcio y otras sustancias con el objetivo de erradicar el biofilm bacteriano.

Por esa razón la presente investigación esta principalmente enfocada a establecer el efecto bactericida de hidróxido de calcio asociado con la clorhexidina al 2.5% aprovechando las propiedades bactericida y de

sustantividad y compararlo con el hidróxido de calcio más agua destilada que es lo que usualmente se utiliza como protocolo de medicación intraconducto y aplicarlo sobre biofilm homogéneo de *Enterococcus Faecalis* que es el principal factor que ocasiona el fracaso endodóntico provocando las lesiones crónicas endodóncias Para establecer su efecto sobre el biofilm y determinar las diferencias que existe entre ambos materiales .

Para realizar la investigación se utilizó 39 muestras y fueron medidas en el espectrofotómetro de marca BOECCO en diferentes tiempos que son nombrados a continuación (1, 5,15 minutos ).

El presente trabajo de investigación está dividido en tres grandes capítulos; el primer capítulo es el planteamiento teórico que son las bases teóricas de la investigación, el segundo capítulo es el planteamiento operacional nos indica como lo hemos realizado y el tercer capítulo son los resultados está referido a los resultados de como salió toda la investigación.



## RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo establecer el efecto que presenta el hidróxido de calcio más clorhexidina al 2.5% y el hidróxido de calcio más agua destilada sobre el biofilm homogéneo de *Enterococcus Faecalis* con el fin de establecer la diferencia en cuanto al efecto que existe entre ambos medicamentos intraconducto.

Las unidades de estudio se dividieron en tres grupos: el grupo n° 1 estaba formado por el medicamento intraconducto a base de hidróxido de calcio más clorhexidina al 2.5%, el grupo n° 2 estaba formado por el medicamento intraconducto a base de hidróxido de calcio más agua destilada y el grupo n° 3 es el grupo control que estaba formado por agua destilada.

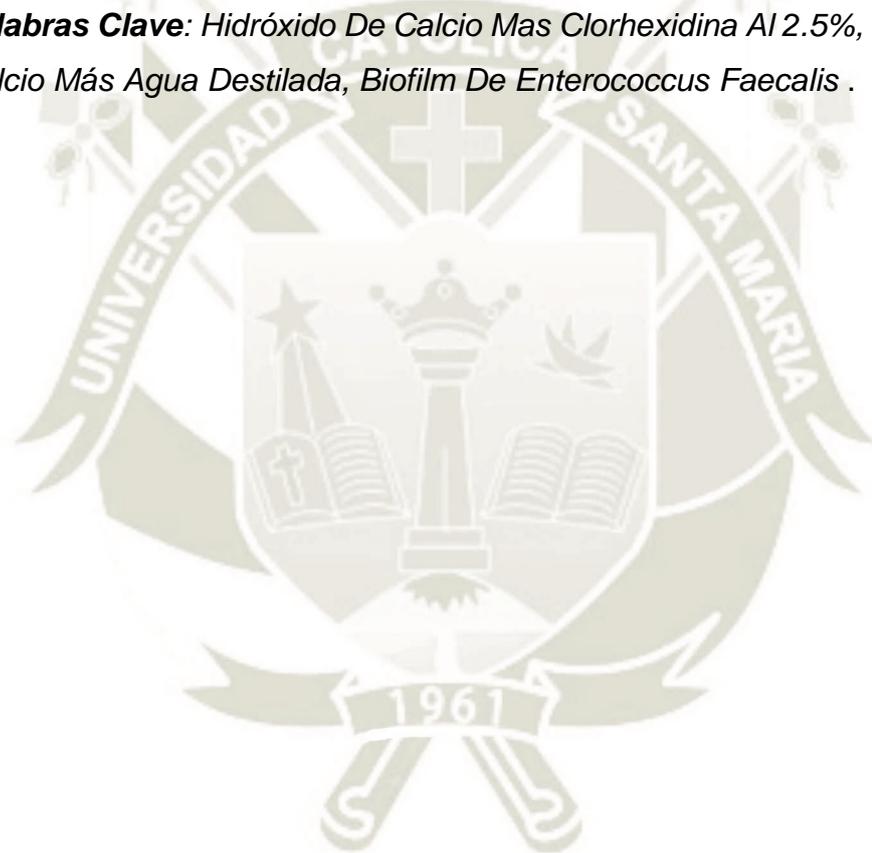
La muestra de cada material fue medida después de 1 minuto, 5 minutos, 15 minutos de contacto con el biofilm bacteriano de *Enterococcus Faecalis* de acuerdo a las especificaciones de los antecedentes investigativos ya mencionados en el área que corresponde. Se utilizaron discos de filtro de celulosa de 15 mm de diámetro por 0.22 mm de diámetro de poros para crear el biofilm bacteriano, Se utilizó 39 frascos donde se colocaron los medicamentos que se va a estudiar. El tiempo fue determinado por el autor de acuerdo a los antecedentes investigativos de otros autores. Los datos fueron obtenidos de manera sistemática en el espectrofotómetro donde fue colocada la solución formada por los medicamentos en las celdas con las longitudes de onda a longitudes de onda de 516 y 555 nm para obtener la absorbancia y posteriormente fueron escritos en la matriz de datos.

Los resultados obtenidos demostraron que el efecto del hidróxido de calcio más clorhexidina al 2.5% sobre el biofilm de *Enterococcus Faecalis* tuvo una absorbancia promedio al minuto de contacto de 0.459 nm, a los 5 minutos de contacto 0.011nm y a los 15 minutos de contacto es 0.018nm El efecto del hidróxido de calcio más agua destilada sobre el biofilm de *Enterococcus*

Faecalis al minuto de contacto 0.027nm, a los 5 minutos de contacto 1.318nm y a los 15 minutos de contacto es 0.144nm.

Según la prueba de Tuckey estableció una diferencia significativa entre la absorbancia promedio entre el hidróxido de calcio más clorhexidina al 2.5% y el hidróxido de calcio más agua destilada en los diferentes tiempos. Si bien se estableció que la clorhexidina en el 1 minuto de contacto tuvo un efecto bactericida menor que el hidróxido de calcio más agua destilada eso cambio a los 5 minutos y 15 minutos que tuvo un efecto superior .

**Palabras Clave:** *Hidróxido De Calcio Mas Clorhexidina Al 2.5%, Hidróxido De Calcio Más Agua Destilada, Biofilm De Enterococcus Faecalis .*



## ABSTRACT

The objective of this research was to establish the effect of Calcium Hydroxide Plus 2.5% Chlorhexidine and Calcium Hydroxide plus Distilled Water on the homogeneous biofilm of *Enterococcus Faecalis* in order to establish the difference between both drugs.

The study units were divided into three groups, group 1 was formed by the intraconducting drug based on calcium hydroxide plus chlorhexidine 2.5%, group 2 was formed by the intraconduccional drug based on calcium hydroxide plus distilled water and the Group 3 is the control group that was made up of distilled water

The sample of each material was measured after 1 minute, 5 minutes, 15 minutes of contact with the bacterial biofilm of *Enterococcus Faecalis* according to the author's specifications. Cellulose filter discs of 20 mm diameter by 0.25 mm thickness were used to create the bacterial biofilm, 39 bottles where the drugs to be studied were placed. The time was determined by the author according to the investigative background of other authors

The data were obtained systematically in the spectrophotometer where the solution formed by the drugs was placed in the cells with a wavelength of 536 nm to obtain the absorbance and subsequently they were written in the data matrix.

The results obtained showed that the effect of calcium hydroxide plus chlorhexidine at 2.5% on *Enterococcus Faecalis* biofilm had an average absorbance at contact minute of 0.459nm, at 5 minutes of contact 0.011nm and at 15 minutes of contact is 0.018nm. of Calcium Hydroxide plus Distilled Water on the *Enterococcus Faecalis* biofilm at 0.027nm contact minute, at 5 minutes contact 1,400nm and at 15 minutes contact is 0.144nm.

According to Tuckey's test, he established a significant difference between the average absorbance between calcium hydroxide plus chlorhexidine at 2.5% and calcium hydroxide plus distilled water at different times. Although it was

established that chlorhexidine in the 1 minute of contact had a lower bactericidal effect than calcium hydroxide plus distilled water that changed after 5 minutes and 15 minutes that had a superior effect

KEYWORDS: Calcium Hydroxide, Plus 2.5% Chlorhexidine, Calcium y biofilm de Enterococcus Faecalis





# **CAPITULO I**

## **PLANTEAMIENTO TEÓRICO**

## PLANTEAMIENTO TEÓRICO

### 1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

#### 1.1 Determinación del Problema

El presente trabajo de investigación ha sido establecido por efecto sinérgico de los diferentes mecanismos exploratorios como la motivación personal por un lado y por otro la curiosidad que tiene mi persona para utilizar nuevas alternativas como medicación intraconducto y conseguir un proceso reparativo en un tiempo reducido y eficaz. Por otro lado la lectura en los diferentes textos de la especialidad en la cual mencionan que la característica principal de la clorhexidina es la sustantividad cuya propiedad le permite actuar aun después de haber sido colocada en el conducto por un periodo de tiempo. Sabemos que el hidróxido de calcio ya es utilizado como medicamento intraconducto porque su PH es alcalino proporcionando un ambiente impropio a las bacterias. De esa manera nació la idea de juntar ambos materiales y utilizarlo como materiales de medicación intraconducto sobre biofilm de *Enterococcus Faecalis* que es el microorganismo anaerobio facultativo más recurrente en un fracaso endodóntico.

Es interés del investigador establecer el efecto del hidróxido de calcio con y sin clorhexidina sobre la absorbancia de biofilm de *Enterococcus Faecalis in vitro*. El efecto es muy claro en teoría ya que se sabe que el hidróxido de calcio y la clorhexidina tiene un efecto positivo sobre el *Enterococcus Faecalis*.

#### 1.2 Enunciado

“EFECTO IN VITRO DEL HIDRÓXIDO DE CALCIO CON CLORHEXIDINA AL 2.5% Y HIDRÓXIDO DE CALCIO CON AGUA DESTILADA SOBRE LA ABSORBANCIA DE BIOFILM DE ENTEROCOCUS FAECALIS EN LA LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA, UCSM, 2017”

### 1.3 Descripción

#### 1.3.1. Área de conocimiento

- A. ÁREA GENERAL: Ciencias de salud
- B. ÁREA ESPECIFICA : Odontología
- C. ESPECIALIDAD : Endodoncia y Microbiología
- D. LÍNEA O TÓPICO : Medicación intraconducto

#### 1.3.2. Operacionalización de variables

El estudio de la investigación presenta una variable Respuesta y otras dos variables estímulos

VARIABLE		DEFINICIÓN DE VARIABLES	INDICADORES	SUB-INDICADORES
V.E.1	Hidróxido De Calcio + Clorhexidina	Es un compuesto antibacteriano y fungicida		
V.E.2	Hidróxido de calcio más Agua Destilada	Es una mezcla en la cual el hidróxido de calcio es una sustancia que se obtiene por calcinación del carbonato de calcio con un PH 12.4-12.8		
VR.	Absorvancia de Biofilm de Enterococcus Faecalis	Mide la cantidad de luz absorbida provocado por el grado de turbidez de un conjunto de microorganismos asociado y agregados	ABSORBANCIA	Longitud de onda 380-800 NM
			TIEMPO	1 Minuto
				5 Minutos
	15 Minutos			

### 1.3.3 Interrogantes básicas

- A. ¿Cuál es el efecto in vitro del hidróxido de calcio más clorhexidina al 2.5% sobre la de absorbancia de biofilm de Enterococcus Faecalis in vitro?
- B. ¿Cuál es el efecto in vitro del hidróxido de calcio más agua destilada sobre la absorbancia de Enterococcus Faecalis in vitro?
- C. ¿Cuál es la diferencia de la absorbancia de biofilm Enterococcus Faecalis en ambos grupos?

### 1.3.4 Taxonomía de la investigación

ABORDAJE	TIPO DE ESTUDIO						
	Técnica de Recolección	Tipo de Datos	N° de mediciones	N° de grupos	Ámbito de recolección	Diseño	Nivel
Cuantitativo	Experimental	Prospectivo	Longitudinal	Comparativo	Laboratorio	Cuasi experimental	Explicativo

### 1.4. Justificación

La presente investigaciones es válida por su originalidad en el medio, ya que se ha registrado investigaciones sobre el efecto de la clorhexidina e hidróxido de calcio sobre distintos tipos de microorganismos de manera separada y en distintas concentraciones.

La importancia científica que presenta la investigación es determinar el efecto del hidróxido de calcio más clorhexidina sobre una cepa de microorganismo que tiene comportamiento hostil dentro del conducto. Además conviene destacar la relevancia práctica de la investigación en la determinación del efecto del hidróxido de calcio más clorhexidina sobre la cepa de microorganismos de Enterococcus faecalis para que sea utilizado como medicamento intraconducto.

Otra consideración no menos importante que la anterior es la relevancia contemporánea ya que el fracaso de las infecciones de origen

endodóntico son producidas esencialmente por el tipo de biofilm que presenta comportamiento adaptativo al medio en el que se encuentran; provocando fracaso en la endodoncia y de esa manera produce lesiones crónicas endodóntico para lo cual es adecuado proponer medicamentos que colaboren para lograr el éxito endodóntico.

Porque se cuenta con unidades de estudio, recursos, literatura especializada, tiempo y conocimientos metodológicos. También es una consideración importante es el interés personal de establecer los efectos de los distintos medicamentos utilizados en el proceso de desinfección de los conductos para evitar el fracaso endodóntico.

Por lo tanto la investigación se ha constituido para mi persona como un reto personal para mi desenvolvimiento como un profesional. El presente problema de la investigación responde con creces a las políticas investigativas de la universidad al guardar conformidad con el área problemática y nivel de relevancia exigidos para un profesional.

## 2. OBJETIVOS

- A. Determinar el efecto in vitro del hidróxido de calcio más clorhexidina al 2.5% sobre la absorbancia de biofilm de *Enterococcus Faecalis*.
- B. Determinar el efecto in vitro del hidróxido de calcio más agua destilada sobre la absorbancia del *Enterococcus Faecalis* in vitro.
- C. Comparar el efecto in vitro de la absorbancia de biofilm de *Enterococcus Faecalis* en ambos grupos.

### 3. MARCO CONCEPTUAL

#### 3.1. Medicación Intraconducto

##### 3.1.1. Definición

Es la colocación del fármaco dentro del conducto radicular por un determinado tiempo y que será sometido a recambios necesarios hasta el término del tratamiento endodóntico con el fin de promover la desinfección o erradicación de los microorganismos de los túbulos dentinarios y del sistema de conductos(1).

También es llamada *medicación entre sesiones, medicación local o medicación intraconducto*(1).

##### 3.1.2. Consideraciones para elegir un medicamento intraconducto

Para poder seleccionar correctamente un fármaco como medicación intraconducto es necesario conocer sus características antisépticas así como la capacidad que presenta para poder controlar la infección bacteriana sin causar irritación o destrucción de los tejidos periapicales para lo cual se debe tener en consideración las siguientes características (1):

- a) **Cantidad:** Se debe considerar la cantidad y la concentración del fármaco para conseguir los efectos deseados sin lesionar los tejidos circundantes ya que es diferente colocar la medicación en conductos amplios que en conductos estrechos(1).
- b) **Localización:** Es indispensable tener conocimiento sobre el mecanismo de acción de la sustancia para determinar la correcta colocación. Por ejemplo si la pieza dentaria

tiene un diagnóstico con lesión periapical el medicamento debe ser colocado en la totalidad del conducto(1).

**c) Tiempo de Aplicación:** Es importante saber el tiempo de vida útil del medicamento para colocarlo y por cuanto tiempo va estar en el conducto(1).

### **3.1.3. Indicaciones para utilizar un medicamento intraconducto**

- Anatomía compleja ya que algunas piezas dentarias presentan zonas inaccesibles a la instrumentación e irrigación(2).
- Dientes que presenten periodontitis con reabsorción del ápice con presencia de cráteres que tengan bacterias albergadas(2).
- Casos de sobreinstrumentación(2).
- Presencia de la solución irrigadora hasta el 1/3 apical.(2)

### **3.1.4. Objetivos de la medicación intraconducto**

- Eliminación de las bacterias que persisten en los conductos después del proceso de instrumentación(2).
- Fijar y neutralizar los residuos tóxicos y antigénicos remanentes en el espacio pulpar(2).
- Reducción de la inflamación, exudado y control del absceso periapical persistente mediante el contacto directo del medicamento con la lesión periapical(2).
- Constitución de una barrera mecánica, ante posible filtración de la obturación temporal(2).

- Prevención y control del dolor postoperatorio reduciendo la respuesta inflamatoria y analgésica(2).

### 3.1.5. Tipos de medicación

#### A. Medicación Intraradicular

##### a) Sin lesión periapical:

Está relacionado con la presencia contaminación bacteriana, hongos y virus dentro del sistema de conductos radiculares que causan un proceso de inflamación y por ende un mecanismo de defensa conformado por un tapón linfoplasmocitario que causara progresivamente un proceso necrótico que es causado por la falta de circulación sanguínea a nivel terminal y el cese de sus funciones vitales fisiológicas ocasionando lo siguiente(3) :

La formación de un medio de cultivo propicio para el crecimiento bacteriano debido a la presencia de restos orgánicos tisulares, ausencia de luz, oxígeno y además se encuentra a una temperatura ideal. Haciendo que el tejido pulpar necrótico funcione como una fuente de nutrientes para los microorganismos que se encuentren dentro del sistema de conductos(3).

Para realizar el proceso de descontaminación y erradicación de los microorganismos ubicados en el conducto radicular se realiza por medio de la preparación de químico quirúrgica(3). Que es obtenida por un conjunto de sub procedimientos que incluyen, la utilización de sustancias irrigadoras , técnicas de irrigación y medicación intraconducto por determinado números de sesiones (1).

## b) Con lesión periapical

Son aquellos dientes que presentan contaminación a nivel de los tejidos peri radiculares(3).

Según *Mohammadi y cols* mencionaron que los microorganismos tienen el papel principal en el inicio de la aparición de las enfermedades pulpo-periapicales(4).

En la cual debemos entender que las piezas dentarias que presenten lesión periapical se presentan por dos antecedentes:

El primero es que la pieza dentaria atravesado un proceso necrótico para lo cual el origen de dicha lesión es ocasionada por un proceso evolutivo a través del tiempo y debemos destacar que la contaminación bacteriana será de mayor alcance a nivel del tejido dentinario circundante. Haciendo que estos dientes tenga un grado de contaminación y de mayor penetración aumentando la dificultad para la erradicación de la contaminación bacteriana y conseguir el éxito endodontico(3).

Y la segunda situación es el tiempo de contaminación y la presencia de bacterias más invasivas con mayor grado virulencia(3).

Por eso es recomendable el uso de medicamentos intraconducto para obtener un ambiente libre de bacterias en el sistema de canalículos de la anatomía radicular(4).

Presenta dos tipos de Lesiones Periapicales:

- **Lesiones apicales con pequeñas rarefacciones Oseas** : Son aquellas lesiones peri apicales que presentan lamina dura rota o pobremente definida con

resolución técnicamente deficiente que se no se puede observar claramente (5).

- **Lesiones refractarias** : Son aquellas lesiones que se producen de manera persistente y recidivante ocasionada por la falta de regeneración de los tejidos periradiculares después de un determinado tiempo (6).Esto se debe :
  - La presencia de un ecosistema con características impares en función de su ubicación .Cuando la región apical es contaminada presenta una pequeña cantidad de oxígeno y gran disponibilidad de proteínas (Debido a la presencia de tejidos en descomposición ) estas ocasionan las condiciones adecuadas para el desarrollo de bacterias anaeróbicas facultativas ( Allard y colaboradores , 1979 : Fabricius y colaboradores,1982; Sundquist ,1992; Sundquist ,1994 : Seltzer ; Farber1994 ). (3)
  - La presencia de los productos tóxicos ocasionados por las bacterias anaeróbicas lleva al huésped a un mecanismo de defensa provocando la lisis de la región apical denominándose lesión periapical esta puede ser aguda o crónica dependiendo del microorganismo involucrado (3).

### 3.1.6 Hidróxido de calcio:

#### 3.1.6.1 Definición:

Es una sustancia de color blanco, inodoro utilizado en el campo endodóntico y fue introducido por Bernhard W. Hermann en 1920 con una investigación pionera en base al hidróxido de calcio(1). Es inestable y susceptible al combinarse con el anhídrido carbónico o

dióxido de carbono sustraído del aire en la que se transforma en el nuevo carbonato cálcico por esa razón el frasco de hidróxido de calcio debe estar cerrado herméticamente(7).

Se obtiene por la calcinación de carbonato de calcio y la transformación en óxido de calcio(8)(9). Dando como resultado a un polvo blanco, insoluble en alcohol y poco soluble en agua con un Ph alcalino que se encuentra entre 12,4- 12,8 lo cual produce un efecto nocivo sobre las bacterias provocando la liberación de los iones calcio e hidroxilo que van a actuar sobre la actividad enzimática(9).

Presenta propiedades antimicrobianas, con capacidad dentinogénica y osteogénica(9).

Se cree que su representatividad destacada es debido a las propiedades de inhibición de enzimas bacterianas a partir de la membrana citoplasmática la cual conduce el efecto antimicrobiano y la activación enzimática del tejido que motiva un efecto mineralizador observada a partir de la fosfatasa alcalina(10).

Para que pueda ser utilizado como medicación intraconducto el conducto deberá estar instrumentado y conformado eso significa que deberá estar vacío, seco y con una permeabilización dentinaria; para alcanzar la permeabilidad dentinaria se deberá colocar EDTA para facilitar la acción del hidróxido de calcio sobre la dentina (1).

Es importante conseguir la permeabilidad dentinaria para evitar que los túbulos dentinarios sean tapados por la sustancia amorfa llamada Smear layer o barro dentinario que está compuesto por restos dentinarios provenientes del proceso de instrumentación del conducto(1).

Debe permanecer entre 1 a 7 días; otros autores registraron periodos mayores entre 7 a 30 días para proporcionar un adecuado proceso de desinfección en el conducto radicular(1). Por esa razón de

acuerdo a lo estudiado preferentemente se coloca el hidróxido de calcio en pacientes que tengan el conducto instrumentado con diagnóstico de pulpitis o necrosis pulpar . En caso que el paciente que presenta una lesión periapical y que constituye una lesión crónica de larga data se recomienda colocarlo de 7 días a 30 días(1). Es utilizado en el área de odontopediatría y endodoncia.

### 3.1.6.2 Propiedades del hidróxido de calcio

- Presenta un efecto BACTERICIDA por su PH alcalino alto que tiene un efecto destructor sobre la membrana plasmáticas y estructuras proteínicas de la bacterias reduciendo el crecimiento de las bacterias(9)(7).
- Según *Mohammadi y cols* mencionaron que el hidróxido de calcio (abreviado como  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ), es el medicamento más comúnmente utilizado en la terapia endodontico, y ha demostrado ser eficaz contra las fuentes primarias de infección; sin embargo, su efectividad contra algunos microorganismos, como *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis* no ha sido demostrada. Y el autor recomienda que debemos combinar  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  y algunos irrigantes del conducto radicular como posibles medicamentos intracanal. (9)
- Produce envejecimiento pulpar por estimulación de las fibras colagenas(7).
- Induce a la remineralización de la dentina (7)
- Biocompatibilidad excelente con los tejidos periradiculares (7).

- Posee Ph alcalino (7).
- Es antiinflamatorio(7).
- No es toxico(7).
- Como medicamento antinflamatorio en los tejidos periapicales : Por tener una acción higroscópica para formar puentes de calcio y proteínas previniendo la salida de exudado de los capilares consecuentemente inhibe a la fosfolipasa y seguidamente a la liberación de prostaglandinas (2)(7)(11).
- Momificación de las sustancias orgánicas que quedan de residuos en el conducto (11).
- Previene la reabsorción inflamatoria radicular (11)
- Reparación histica periapical : En caso de una lesión osteítica o lesiones quísticas (11)
- Previene y controla el dolor postoperatorio mediante su acción antimicrobiana y antiinflamatoria (11)

### **3.1.6.3. Usos de hidróxido de calcio**

- Como medicamento antinflamatorio : Por tener una acción higroscópica para formar puentes de calcio y proteínas previniendo la salida de exudado de los capilares consecuentemente inhibe a la fosfolipasa y seguidamente a la liberación de prostaglandinas (2)(7).
- Controla la hemorragia durante la extirpación pulpar (11).
- En periodontitis apicales que presenten reabsorciones de la porción radicular (11).

- En pulpas necróticas (11).
- Tratamientos con apico formación en dientes permanentes jóvenes(11). Porque induce a la formación del ápice radicular junto a la preparación biomecánica induce a las células formadoras que se encuentra el tejido periapical para producir el cierre apical mediante un tejido remineralizado (osteocemento)(8).
- En todos los tratamientos que se realicen en más de una sesión operatoria(11).
- En conductos radiculares con anatomía compleja con múltiples zonas inaccesibles a la instrumentación y a la irrigación(11).

#### **3.1.6.4 Propiedades Químicas del hidróxido de calcio**

El hidróxido de calcio constituye una base iónica fuerte (pH = 12.6) y es poco soluble en agua – 1.2 g/ly es obtenida a partir de la calcinación del carbonato de calcio hasta la transformación en óxido de calcio para luego ser hidratado y llegar a ser hidróxido de calcio (10).

Las propiedades del hidróxido de calcio provienen de la disociación del ion hidroxilo y iones de calcio haciendo que estos iones tengan un efecto sobre los tejidos y las bacterias (10). Por lo que se entiende que cuando se pone hidróxido de calcio en el conducto radicular el 45.89% y el 54.11% se disocian el iones hidroxilos y iones calcio (10).

- **Efecto del ion calcio**

Según *Carvalho y col* : hicieron un estudio que tuvo como objetivo la evaluación de iones calcio que son liberados por el hidróxido de calcio sobre la dentina humana a los 30 días de permanencia en el conducto radicular(12).

Presenta una acción HIGROSCOPICA disminuyendo la salida del líquido de los capilares y del líquido intercelular para controlar el exudado y de esa manera disminuye el dolor y el proceso inflamatorio (13)(8).

- Eleva el umbral para iniciar el impulso nervioso Previniendo o controlando el dolor postoperatorio, mediante su acción antimicrobiana y antiinflamatoria. Sin embargo, algunos autores opinan que el dolor postoperatorio no está relacionado solamente con la presencia de bacterias, sino también con una irritación química o traumática provocada durante los procedimientos operatorios tales como la sobre instrumentación o un desbridamiento incompleto de los conductos(8).
- Estimula el sistema inmunitario y activa el sistema de complemento (8).
- Acción MITOGENICA: Es la propiedad que hace que los dientes que han sido restaurado presentan mayor número de divisiones celulares(8).
- De acuerdo al *Dr, Sharmad y colaboradores* demostró que el hidróxido de calcio demostró presenta un efecto antimicrobiano mejor para

tiempos de contacto con los tejidos dentarios que varían entre siete y 45 días es comparable(14).

- EFECTO MINERALIZADOR : Activa la fosfatasa alcalina , adenosina trifosfatosa y pirofosfatosa de calcio favoreciendo proceso mineralizador y reparación apical (13)(8).

- **Efecto del ion hidroxilo**

- ACCIÓN ANTINFLAMATORIA: Gracias a su PH que es alcalino influye en el crecimiento, metabolismo, y división celular .En la membrana celular existe un gradiente de PH produce el transporte de nutriente y compuesto orgánicos hacia el interior de la celular. Entonces los hidroxilos actúan sobre la membrana plasmática de los microorganismos(13)(8).

### 3.1.6.5 Mecanismo de acción del hidróxido de calcio

El hidróxido de calcio se desdobra en un ion hidroxilo y el ion calcio(8).

El ion hidroxilo que altera la integridad de la membrana citoplasmática alterando la actividad enzimática mediante la destrucción de fosfolípidos , ácidos grasos insaturados ha través de un proceso per oxidación lipídica siendo esta una reacción de saponificación(10).

Afecta a los lipopolisacaridos bacterianos que se encuentran en la pared celular(10) .Ha través del proceso de hidrolisis(3).Provocando la lisis de la membrana citoplasmática(3).

El ion calcio activa la enzima fosfatasa alcalina que causa un proceso de mineralización(15).

El hidróxido de calcio provoca la lisis del ADN (3)

Altera las características estructurales de las bacterias como forma y motilidad (3)

Es un irritante tisular que actúa destruyendo tejido normal promoviendo un fracaso en el proceso de reparación (3)

#### 3.1.6.6 Técnica de uso

- Antes de colocar el hidróxido de calcio dentro del conducto este debe estar permeable para esto debe haber sido irrigado con EDTA previamente. El uso del EDTA sirve principalmente para eliminar el SMEAR LAYER o BARRILLO DENTINARIO que muchas veces es un obstáculo para que el Hidróxido de calcio penetre y desinfecte adecuadamente los conductillos dentinarios(1).
- Mezclar el hidróxido de calcio en una loseta de vidrio con el material acuoso hasta obtener una mezcla homogénea y cremosa(11).
- Luego se llena el conducto radicular con hidróxido de calcio con un lentulo o una lima llevándolo a la constricción apical (1)(11).
- Se procede a tomar la radiografía (1).
- Se limpia la cámara pulpar con una bolita de algodón y sellar la cavidad con un cemento temporal resistente(1)(11).

- Para retirar el hidróxido de calcio se irriga con abundante solución de irrigación como el hipoclorito de sodio al 2.5%(11).
- Después colocar EDTA líquido por 5 minutos para continuar seguidamente con la irrigación de hipoclorito de sodio al 2.5% para la remoción de la pasta de hidróxido de calcio para obtener la obturación definitiva del conducto(11).

El hidróxido de calcio siempre es utilizado con un vehículo que le ayuda a tener mejores características de disolución (15)(3). y de disgregación en iones calcio e hidróxido de calcio(3)(15).

El vehículo más usado para ser mezclado con el hidróxido del calcio es el agua destilada, aunque entre los más frecuentes también se encuentran la solución anestésica, clorhexidina, suero fisiológico, paramonoclorofenol alcanforado, yodoformo y propilenglicol(11).

Para rellenar el conducto con hidróxido de calcio, se puede utilizar una pasta industrializada (ejemplo, Calcipulpe®, Septodont®; Octocanal®, Clarben®); o preferiblemente preparar una pasta en el momento del uso, utilizando hidróxido de calcio puro, en polvo, disponible en casas comerciales o fabricado por un laboratorio farmacéutico(11).

### 3.1.6.6 Tiempo de permanencia

El hidróxido de calcio es un material que actúa de manera progresiva mediante un proceso de alcalinización del tejido destinatario para lo cual necesita de 7 a 30 días. Sadafy y col . Menciona que se necesita por lo menos 24 horas para provocar u proceso de desinfección eficaz. Estrela menciona que tiene un efecto bactericida sobre el *Micrococcus Luteus*

de 12 horas de permanencia; 24 horas para *fusobacterium nucleatum* ; 48 horas para *ecchericha coli* ; 72 horas para *staphilococcus aureus* (9).

### 3.1.7 Gluconato de clorhexidina

#### 3.1.7.1 Antecedentes Históricos

Fue introducida en la década de 1940 en Inglaterra y se comercializó en 1954 como antiséptico para heridas de piel. A partir de 1970 Loel y Schiott la comercializo como un enjuague bucal, capaz de inhibir la neoformación de placa y el desarrollo de la gingivitis. En 1975, Baker y Cols. Consideraban viable el uso de la clorhexidina como irrigante en endodoncia. En 1982, Delany y Cols. Concluyeron que la clorhexidina es un agente antibacteriano efectivo al utilizarse como irrigante durante la terapia endodontico(16).

Leonardo y col. en un estudio In Vitro demostró la actividad antimicrobiana de la clorhexidina al 2% que fue utilizada como solución irrigadora en un grupo de dientes con necrosis pulpar y lesiones periapicales crónica que se podían visualizar radiográficamente(16).g

Según *Carvalho y col* :realizaron un estudio que tuvieron como objetivos medir la liberación de iones calcio y sodio que tenían una serie de medicamentos en especial la clorhexidina y hidróxido de calcio determinando que la clorhexidina presenta una liberación de iones sodio y un descenso en el PH mientras que el hidróxido de calcio presenta la liberación de iones calcio y aumento de Ph durante 30 días de permanencia y que está en contacto con el tejido dentinario.(12)

### 3.1.7.2 Definición:

La clorhexidina es también llamada diclonato, gluconato, acetato, clahexina. Es un compuesto que pertenece a la familia biguanida catiónica compuesta por dos anillos clorofenólicos y dos grupos bisguanidas conectados por un hexametileno con cargas positivas en los extremos(17).

Es extremadamente interactiva con los aniones por su naturaleza dicationica(16).

Presenta propiedades antibacterianas por su acción bactericida, antimicrobiano y de amplio espectro no tóxica, es incompatible y de liberación prolongada y gradual por esa razón es utilizada como irritante y medicación intraconducto. A diferencia del hipoclorito de sodio no tiene la capacidad de disolver el material orgánico pero tiene la capacidad de liberarse después de 48 a 72 horas.(17) Presenta un PH de más de 3.5 (16).

De acuerdo *Ya Shen y cols* realizaron un estudio la recuperación de biofilms a partir de dos tipos de clorhexidina al 2% y clorhexidina modificada con tratamiento modificadores de superficie (CHX - PLUS ) ; y examinaron la viabilidad bacteriana después de estar expuesto a los diferentes tipos de clorhexidina después de 1 , 3 y 10 minutos y revelaron que la clorhexidina tiene un efecto bactericida inferior al 1 y 3 minutos de contacto y recupera su efecto bactericida a los 5 y 10 minutos Concluyendo el estudio a la clorhexidina plus tiene un efecto bactericida más eficaz que la clorhexidina al 2%(17).

### 3.1.7.3 Propiedades del gluconato de clorhexidina

- **Efecto Bactericida:**

Tiene un efecto bactericida en altas concentraciones induciendo a la precipitación y coagulación del citoplasma celular. Siendo adsorbida por la pared celular causando la rotura y la pérdida de los componentes celulares (Yesilsoy y col 1995). Actúa sobre bacterias gram + y gram -, esporas bacterianas, virus lipofílicos y dermatofitos(18)(19).

- **Efecto Bacteriostático**

Presenta dicho efecto en bajas concentraciones. Es producido por la disgregación de sustancias de bajo peso molecular como el potasio y fósforo. Dicho efecto se produce cuando la clorhexidina se libera de manera gradual y lenta a través del tiempo(18)(19).

- **Actividad Antimicrobiana**

Presenta una actividad de amplio espectro actuando sobre bacterias gram positivos, gram negativos, levaduras, hongos, anaerobios facultativos y aerobios. Fardal y Turnbull afirman que los estafilococcus, estreptococcus mutans salivarius y la Escherichia coli son altamente susceptibles a la clorhexidina. Es estreptococcus sanguis posee una susceptibilidad intermedia, Klebsiella es de baja susceptibilidad. Tiene capacidad de desnaturalizar los proteus y pseudomonas (17).

- **Sustantividad**

Es la capacidad que tiene un compuesto de actuar a través del tiempo, es adsorbido por la hidroxiapatita de la superficie dental y proteínas salivales y se libera

subsecuentemente cuando disminuye la cantidad del medio bucal(18).

#### **3.1.7.4 Características del gluconato de clorhexidina**

- Baja tensión superficial por esa razón penetra en los conductillos dentinarios y en los conductos accesorios (16).
- Es lubricante de esa manera ayuda a que los instrumentos se deslicen con facilidad (16).
- Buen Olor (16).
- No es caustica (16).
- Presenta una actividad residual después de la instrumentación (16).
- Fácil almacenamiento y manipulación(16).
- Baja toxicidad (20).
- Biocompatibilidad (20).
- Amplio espectro de acción sobre bacterias (gram positivas y gram negativas ), virus ,hongos ,levaduras , aerobios y anaerobios (20).

#### **3.1.7.5 Desventajas del gluconato de clorhexidina**

- Alto costo (16).
- No desactiva el LPS (20).

#### **3.1.7.6 Mecanismo de acción**

La clorhexidina es una sustancia que tiene una afinidad por la pared celular de la bacteria; esto se debe a la interacción electrostática de la carga positiva de la clorhexidina y la carga negativa que presenta la pared celular de la bacteria dicha interacción produce el aumento de la permeabilidad de la

membrana plasmática haciendo que haya un incremento de la clorhexidina hacia la membrana celular ocasionando el proceso de absorción(21)(22).

La cantidad de absorción depende de la concentración de la misma y es absorbida gradualmente y liberada durante más de 24 horas, por eso se cree que reduce la colonización bacteriana en la que la clorhexidina posee un amplio espectro antibacteriano residual hasta por 168 horas posteriores a su aplicación (22).

### 3.1.8 Interacción entre el hidróxido de calcio y clorhexidina

Según *Freire. et .al* investigo las propiedades del hidróxido de calcio con la clorhexidina, al ser mezclados se alteran ya que el hidróxido de calcio es una sustancia que se caracteriza por tener un PH alcalino y la clorhexidina presenta un PH acido de más de 3 a 5 .Observo que el hidróxido de calcio mantuvo su PH alto y la clorhexidina subió su PH al entrar en contacto con el hidróxido de calcio. *Turk Et* estudio al hidróxido de calcio mezclado con diferentes vehículos contra el *Enterococcus Faecalis* Y *Candida Albicans* y los resultados obtenidos fue que la mejor eficacia en contra de los microorganismo fue la mezcla de hidróxido de calcio y clorhexidina al 2%. *Gómez Et Al* realizaron un estudio para comparar la actividad antimicrobiana del hidróxido de calcio con solución salina y clorhexidina al 2% en gel con diversos microorganismos patógenos y tuvo como resultados que la mezcla de clorhexidina +hidróxido de calcio es la mejor opción para ser utilizado como medicamento intraconducto .*Ercan Et Al* realizo un estudio en piezas con tratamiento endodóntico fallido y con lesiones periapicales en los cuales medicaron con hidróxido de calcio más clorhexidina 1% realizando un recambio cada 6 semanas Luego de un año se observó 64%

de reparación total , 14% en proceso de reparación y 22% fallo .Algunos estudios han demostrado efectividad al utilizar hidróxido de calcio más clorhexidina(23).

### 3.1.9 Biofilm

#### 3.1.9.1 Definición

Es una comunidad que forman un estructura asociada de una o varias especies bacteriana embebidas por una matriz de extracelular de polisacáridos auto producidas que se encuentra adherida a una superficie o sustrato que pueden ser inertes, tanto biológicas o sintéticas .Según la OMS el biofilm es un ecosistema proliferante y enzimáticamente activo(24)(25) .

Por un largo tiempo los microorganismos han sido considerados como microorganismos planctónicos es decir células suspendidas. Hasta finales de los años 1600 Antón Van leeuwenhock observó el *Animaculæ* que era una comunidad suspendida de microorganismos esto llevó al descubrimiento de biopelículas asociadas con un fenotipo, transcripción genética y tasa de crecimiento distinto formando comunidades estructuradas como pequeños ecosistemas (26).

La importancia del conocimiento del biofilm en endodoncia que es la principal causa de fracaso endodóntico debido a la resistencia que ofrecen las bacterias en suspensión a los germicidas utilizados produciendo signos o síntomas clínicos leves que indican un crecimiento y formación de una comunidad bacteriana .Dicha resistencia es la característica principal del biofilm más que la virulencia que presentan haciendo que sea difícil su erradicación. La asociación de las

bacterias constituye un mecanismo de adaptación de los microorganismos para sobrevivir y auto sustentarse.

De acuerdo Siqueira y Rocas menciona que el biofilm se encuentra en la lesiones periapicales crónica (27).

Chavez de Paz y cols .menciona que el biofilm se encuentra en conducto necróticos .Se concluye que el biofilm se encuentra en todo conducto infectado por un proceso necrótico con una lesión crónica (28)

### **3.1.9.2. Morfología del biofilm**

El biofilm se ha formado en distintas formas como de cadena y la más común es en forma de champiñón (27) .Son observada estructuras unitarias de la forma señalada y están separadas por canales de agua dentro de una matriz de polisacárido .Dichos canales de agua permiten la distribución de nutrientes y la eliminación de residuos de las colonias y la atenuación de los medicamentos como los antibióticos para que no produzcan ningún tipo de efecto(24)(29) .Es semejante a un prototejido con un sistema circulatorio propio (canales de agua). Toda la organización antes mencionada solo se encuentra en las colonias de larga duración no en las colonias jóvenes(30)(29).

### **3.1.9.3. Formación y evolución de Biofilm**

La formación del biofilm en el conducto radicular es aún desconocido .La teoría más aceptada fue descrita por Svensater y Bergenholtz en la cual menciona que presenta cuatro fases(31):

- **Primera Fase:**

Se produce la formación de una película adhesiva sobre la dentina promovida por los depósitos de proteínas y otros compuestos derivados de bacterias en suspensión dentro de un proceso de necrosis o una lesión peri apical crónica(31).

- **Segunda Fase:**

Después de haberse formado la película pegajosa comienzan a fijarse bacterias específicas con capacidad de adhesión de todas las que están en suspensión (31).

- **Tercera Fase:**

La primera capa adherida de proteínas segrega mediadores que ayudan a fijarse más y más bacterias hasta formar una matriz extracelular de polisacáridos que correspondería a la primera barrera de defensa contra los medicamentos, irrigante, etc(31).

- **Cuarta Fase:**

Esta matriz extracelular de polisacáridos fue madurando de manera progresiva creando sistemas de defensa muy complejos .Al mismo tiempo arrojan las bacterias al medio para que la respuesta inflamatoria del huésped sea crónica(31).

Siqueiras y Rocas menciona el biofilm consiste en 15 % de bacterias y 85% de matriz extracelular de polisacáridos además de contar 300capas de bacterias superpuestas(32).

#### 3.1.9.4 Evolución del Biofilm

Los mecanismos por el cual evoluciona el biofilm no se conoce exactamente, pero algo si sabe es que la maduración del biofilm es directamente proporcional a la capacidad de defensa y a su resistencia a ser eliminado, por lo que hoy en día la desinfección prematura de las bacterias en suspensión es un factor clave del tratamiento(31).

La teoría más aceptada sobre la resistencia del biofilm menciona que no es más resistente el biofilm que tiene cepas bacterianas solitarias sino las que tiene mayor número de bacterias que tienen la capacidad de autoagregarse ,coagregarse e integrarse .A más tiempo de evolución ,más tiempo de mejorar y sofisticar el sistema de defensa del biofilm por parte de los diferentes estirpes bacterianas (31)

.El factor de virulencia aumenta cuando se asocian dos estirpes bacterianas distintas con parámetros similares como la tasa de división, permanencia en tejido vivo ,capacidad de liberar endotoxinas , etc. La estirpe más poderosa es la que inicia la construcción del biofilm. Puede aislarse del habitat que le rodea cuando el ambiente se vuelve hostil formando estados inertes en los extremos y volviéndose a un estado de latencia y se puede mantener en esta situación por un tiempo mientras mejora el ambiente, cuando mejora abandona el estado de latencia y sigue desarrollándose(31).

Para eliminar el biofilm se realiza de forma directa o indirecta. La eliminación directa se realiza a través de la instrumentación y irrigación .La eliminación indirecta consiste en alterar el hábitat y volverlo a un ambiente hostil a través de dos pasos(31)(27):

- El primer paso se realiza por medio de la irrigación
- El segundo paso a través de la obturación haciendo que no llegue los nutrientes a la zona en un determinado tiempo para que mueran por inanición

### 3.1.9.5 Mecanismos de defensa del Biofilm

Se caracteriza fundamentalmente por la capacidad de resistencia y se incrementa hacia el interior del conducto porque presenta zonas inaccesibles para los desinfectantes y presenta sistemas de defensa que son los siguientes:

- La matriz de polisacáridos que es una barrera física y química evitando la entrada de agentes externos para mantener un ambiente adecuada que pueda asegurar la supervivencia (31).
- Las enzimas producidas por el biofilm promueve la adhesión de otros sustratos o de otras bacterias que inactivan los agentes bactericidas (33)(31).
- El biofilm va desprendiendo bacterias en el medio para distraer los mecanismos de defensa del huésped ,cronificando el proceso ocasionando signos y síntomas en el paciente que remiten cuando el paciente recibe antibioticoterapia sin que este elimine el nido de origen(33).
- Presenta una metabolismo interno inferior al de las bacterias en suspensión (2).
- La tasa de división es baja para ahorrar los nutrientes(2).
- El biofilm presenta una tasa de división inferior que las bacterias en suspensión porque interacciona menos con el

medio y presenta una tasa de mitosis menor. No ocasiona cuadros agudos sino crónicos(2).

- Siqueira y Rocas lo bautiza como Biofilm lifestyle (27).

### 3.1.9.6 Tipos bacterianos que forman El Biofilm

Los tipos bacterianos de origen endodóntico son bacilos, cocos, filamentos y ocasionalmente se encuentran espiroquetas. Se ha observado con mucha frecuencia la especie de *Prevotella* por la capacidad que presenta de autoagregarse y coagregarse. Se ha encontrado *Fusobacterium Nucleatum* por la capacidad que presenta para autoagregarse y resistencia que presenta a biocidas y algunos autores consideran que dicha bacteria es un puente o núcleo del biofilm. Ozock y Col. encontraron una asociación entre el *peptostreptococcus* y *fusobacterium nucleatum*. Metzger y cols. Determinaron que el *fusobacterium* tiene una afinidad con *porphyromonas gingivalis*. También se ha observado *enterococcus faecalis* cuya resistencia tiene en contra la instrumentación, irrigación, medicación intraconducto. Se encontró *Sterptococcus Intermedius* que es una bacteria anaerobia facultativa gram- positiva. Yamane y Cols encontró *Bacillus Subtilis* que es una bacteria aeróbica gram – positiva en pacientes con periodontitis crónica apical. Khemalelakul Y Cols identifican más de 15 tipos de especies capaces de formar biofilm mediante la coagregación(31).

### 3.1.9.7 Localización del Biofilm

El biofilm se encuentra tanto en la parte interna del conducto radicular en la cual recibe el nombre de *Biofilm Intrarradicular*;

como en la parte externa de la superficie de la raíz que recibe el nombre de *Biofilm Extrarradicular*.<sup>(34)(35)</sup>.

El biofilm más frecuente es el biofilm intraradicular y en el tercio apical es la zona más predispuesta a su anidamiento, el cual está alojado en zonas de difícil acceso mientras que las bacterias en suspensión se encuentran alrededor del sistema de conductos. Hay zonas que pueden eliminar biofilm con el proceso de instrumentación mientras que las zonas de difícil acceso se realiza por diferentes medios como el proceso de irrigación mediante una técnica depurada. También se puede concluir que una obturación adecuada puede sepultar, asfixiar y truncar el paso de nutrientes ocasionando su muerte por el proceso de inanición<sup>(31)</sup>.

Nair y cols encontraron conductos que tenían istmos que no estaban instrumentados durante la preparación biomecánica y que ocasiona una infección asociada a tejido necrótico fibrodentinario<sup>(8)</sup>.

#### **3.1.9.8 Enterococcus Faecalis**

El *E. faecalis* es la especie más representativa del género *Enterococcus* y el cual se encuentra como parte de la flora normal humana a nivel de la mucosa intestinal y genital<sup>(22)</sup>. Es un Gram positivo, anaerobio facultativo que está compuesto por una pared celular conformado por péptido glucanos y ácido teicoico tiene la capacidad de crecer en un medio ácido y alcalino<sup>(36)</sup>.

Se encuentra conformado en parejas o en cadenas cortas, es considerada la especie más virulenta y que se mantiene con vida por un tiempo prolongado; y es causante del 80% de las patologías del ser humano<sup>(26)</sup>.

Sin embargo, también pueden ser aislados de infecciones dentales. Este microorganismo constituye un patógeno oportunista implicado en la persistencia de la infección, influyendo en el pronóstico del tratamiento de conductos(22).

Puede resistir temperaturas que se encuentran entre 10 C° a 45 C°(26)(36).

Crece en un PH alcalino y ácido(36). Estudios científicos demostraron que es la única especie en penetrar y habitar los conductos dentinarios y formar biopelículas extensas (26).

El E. Faecalis es un microorganismo que se encuentra en infecciones asintomáticas y su prevalencia es 24 al 77 %, presentando una capacidad de competir con otros microorganismos que invaden los túbulos dentinarios y se resisten a la privación de nutrientes y utilizan el suero como fuente de alimentación o colágeno tipo I de las paredes dentinarias (26)(22). Así como del ligamento periodontal para utilizarlo como nutriente (22).

Causa modificaciones patológicas mediante la producción de toxinas que inducen a un proceso inflamatorio y presenta factores de virulencia como sustancias agregantes (AS), adhesinas de superficie ,feromonas , ácido lipoproteico (ALTA), adhesinas de superficie ,enzimas líticas ,serinas proteasas ,hialuronidasa,citolisina (26).

La resistencia del E. faecalis se encuentra en la capacidad de introducirse en los túbulos dentinarios para fomentar el crecimiento y formar la biopelícula en las paredes del conducto radicular con la intención de metabolizar el colágeno de los túbulos dentinarios en caso que no tenga nutrientes (26)(37).

Puede resistir a la medicación intraconducto que es colocada durante varios días(33)(38).

Para que tenga mayor eficacia se complementa con la utilización de irrigantes como la clorhexidina al 2% e hipoclorito de sodio (39,40).

#### **A. PREVALENCIA DEL ENTEROCOCCUS FAECALIS**

De Acuerdo a *Leil y cols* mencionan que el *Enterococcus Faecalis* es la especie microbiana dominante responsable de la periodontitis apical persistente con capacidad para penetrar profundamente en la dentina.

Los exopolisacáridos (EPS) contribuyen a la patogenicidad y resistencia a antibióticos de *E. faecalis*.y concluyeron el paramonolorofenol alcanforado CMCP exhibió la mejor actividad antimicrobiana, mientras que el hidróxido de calcio fue el menos sensible ( $p < 0.05$ ). Mientras que la clorhexidina CHX mostró propiedades antimicrobianas similares a hidróxido de calcio más paramonoclorofenol (22).

El *E. Faecalis* se encuentra en mayor cantidad en aquellos pacientes que están recibiendo un tratamiento o retratamiento endodóntico .Se encuentra en las infecciones primarias entre el 4 y 40 % y está asociado a la periodontitis apical crónica asintomática más que la periodontitis apical aguda y absesos periapicales(22).

Dicha bacteria tiene la habilidad de sobrevivir en condiciones ambientales duras y es el único microorganismo que se encuentra en conductos obturados con lesiones periapicales(41).

## B. MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN DE E. FAECALIS

Debido a las limitaciones con respecto a diagnóstico microbiológico de los métodos de identificación tradicionales previamente expuestos, últimamente están siendo utilizadas las técnicas de biología molecular que pueden llegar a caracterizar con precisión la composición microbiana radicular y periapical. Actualmente, estas técnicas han sido empleadas para la identificación de enterococcus en infecciones de origen endodóntico. Entre éstas, la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) ha sido ampliamente usada para detectar bacterias en este tipo de infecciones(26).

La PCR fue creada por Kary Mullis en 1983, quien ganó el Premio Nobel de Química en 1993. La invención y el desarrollo ulterior del método PCR es, sin duda, uno de los avances técnicos más importantes en la tecnología molecular en el siglo pasado. El método de la PCR se basa en la replicación in vitro del ADN, a través de ciclos repetitivos de reacciones simples. Los principales reactivos(22).

#### 4 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

##### 4.1 TITULO: EFECTO ANTIBACTERIANO DE LA COMBINACIÓN DE CLORHEXIDINA Y CETRIMIDA, EXTRACTO DE LA PLANTA DE SAVILA OFFICINALIS Y OCTENIDINA EN COMPARACIÓN CON IRRIGANTES ENDODÓNTICOS CONVENCIONALES.

- **Autores:** Mehmet Burak Gunecer , Makbule Bilge Akbulut y Ayce Unverdi Eldeniz
- **Fuente:**Dental Materials Journal
- **Año :** 2016
- **Resumen:**

El efecto antimicrobiano del hipoclorito de sodio (NaOCl), clorhexidina al 2% (CHX),y una solución de CHX mas cetrimida (CHX + CTR), Dihidrocloreuro de octenidina (OCT) y extracto de la planta de Salvia officinalis contra Enterococcus faecalis. Se utilizó setenta dientes humanos uniradiculares sin corona ;que fueron infectados y divididos en 6 pruebas (n = 10) y 2 grupos de control (n = 5). en muestras negativas, estériles y positivas; muestras infectadas. Luego se aplicaron los irrigantes a los grupos de prueba: CHX al 2.5% NaOCl, 5.25% , CHX + CTR, extracto de S. officinalis y OCT. Los biofilm de dentina se obtuvieron del conducto radicular infectado contando el número de unidades formadoras de colonias (UFC). Los grupos NaOCl al 2,5%, NaOCl al 5,25%, CHX y OCT no presentaron crecimiento de bacterias (UFC = 0). Los grupos S. officinalis y CHX + CTR redujeron el número de células E. fecales, pero no pudieron eliminar todas .El OCT tiene potencial como irrigante endodóntico en el tratamiento de conductos radiculares infectados(10).

El antecedente investigativo demuestra la efectividad de los irrigantes como la clorhexidina al 2.5% , hipoclorito de sodio ,

clorhexidina mas cretrimida , Dihidrocloruro de octenidina (OCT) y extracto de la planta de *Salvia officinalis* frente a un conducto infectado de biofilm formado por *Enterocococcus Faecalis* en la cual demuestra que la clorhexidina y el hipoclorito de sodio tiene una efectividad mayor porque no presenta crecimiento unidades formadoras de colonia .

- **CONCLUSIONES:** En base a los resultados de este estudio in vitro, CHX + CTR y el extracto de metanol de *S. officinalis* mostró una reducción de las bacterias pero no pudo lograr la eliminación en su totalidad .El desinfectante basado en octenidina fue igual de efectivo de que el hipoclorito de sodio y la clorhexidina frente a la eliminación de *Enterococcus Faecalis* en conducto infectados . Por lo tanto se comprobó que la octenidina tiene un efecto bactericida cuando es utilizado como irrigante intraconducto (10).

#### 4.2 TITULO : DESINFECCIÓN DE TÚBULOS DENTINARIOS CON MEDICAMENTOS INTRACONDUCTO DE GEL DE CLORHEXIDINA AL 2%, HIDRÓXIDO DE CALCIO Y HIERBAS CONTRA ENTEROCOCCUS FAECALIS, ESTUDIO IN VITRO

- **AUTORES** : Agrima Vasudevaa , Dakshita Joy Sinhaa , Shashi Prabha Tyagia , Narendra Nath Singhb , Paridhi Gargc , Deepti Upadhyayd
- **FUENTE** : Singapore Dental Journal
- **AÑO** : 2017
- **RESUMEN**

Este estudio in vitro se realizó para evaluar la desinfección de los túbulos dentinales utilizando gel de clorhexidina al 2%, miel, gel de aloe vera, cúrcuma longa, gel de propóleos y hidróxido de calcio contra *Enterococcus faecalis*. Materiales y método: Doscientos diez primeros premolares mandibulares humanos que fueron infectados con *Enterococcus faecalis* durante 21 días. Las muestras se dividieron en 7 grupos. Grupo I- Solución salina (control negativo), Grupo II- gel de clorhexidina al 2% (CHX), grupo III- miel Grupo IV- Gel de Aloe vera, Grupo V- 20% Curcuma longa gel, Grupo VI- Gel de propóleos y Grupo VII - hidróxido de calcio (CH). Al final de 1, 3 y 5 días, la eficacia antimicrobiana de los medicamentos contra *E.faecalis* se evaluaron a 200 mm y 400 mm(42).

Resultados: gel de clorhexidina al 2% fue el más eficaz seguido de propóleos y cúrcuma longa. Conclusión: gel de clorhexidina al 2% dio los mejores resultados. Entre los extractos de hierbas Propóleos y Curcuma longa mantienen un futuro prometedor, pero para implementar su uso como único medicamento intracanal(42).

El antecedente investigativo pretende investigar la eficacia antibacteriana de la clorhexidina al 2%, miel, gel de aloe vera, cúrcuma longa, gel de propóleos y hidróxido de calcio contra *Enterococcus faecalis* (10).

**CONCLUSIONES** : Que el 2% gel de Clorhexidina es el medicamento intracanal más efectivo contra *E.faecalis*.

El propolis y Curcuma longa (preparaciones de gel) mostraron una buena efectividad contra el *E..faecalis* y pueden usarse como medicamentos intracanal efectivos. Entre los extractos de hierbas, el propóleos y la cúrcuma tienen un futuro prometedor (10).



#### 4.3 TITULO : EFECTO COMPARATIVO DE LA ASOCIACION DE CETRIMIDA AL 0.5% + CLORHEXIDINA AL 2% , HIPOCLORITO DE SODIO AL 5.25% Y CLORHEXIDINA AL 2% SOBRE BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS GENERADO EN MENBRANA DE NITRATO DE CELULOSA ,LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE UCSM , AREQUIPA 2015

- **AUTOR** : Coriat Rodriguez Rodrigo
- **TESIS** : UCSM
- **AÑO** : 2015
- **RESUMEN**

El propósito de este estudio fue comparar el efecto de la asociación de la cetrimida al 0.5% + clorhexidina al 2% , hipoclorito de sodio al 5.25% y clorhexidina al 2% sobre biofilm de Enterococcus Faecalis generado en filtros de nitrato de celulosa en tres tiempos diferentes (43).

La muestra constituyo de un total de 108 filtro de membrana sobre las que generaron los biofilms , estas fueron divididas en 4 grupos de 27 para cada una de las soluciones irrigantes y el grupo control ( cloruro de sodio al 0.9%) cada grupo conto con 9 menbranas (43).

Una vez generado los biofilms, cada filtro de membrana fue cuidadosamente sumergido en recipientes que contenían 5ml de la solución irrigante o cloruro de sodio al 0.9 % que fueron dejados a temperatura ambiente por cada uno de los periodos de tiempo indicados (43).

Los filtros de membrana se cultivaron en caldo BHI en condiciones de anaerobiosis a 37 C° por 24 horas. Al cabo de este periodo de tiempo se hizo la lectura de turbidez con espectrofotómetro y así determinar la actividad contra el biofilm de Enterococcus faecalis (43).

Los resultados promedio de acuerdo a la prueba estadística de Tuckey fueron los siguientes : La combinación de Cetrimida al 0.5% +

clorhexidina al 2% a los 5 minutos de exposición obtuvo una lectura promedio de absorbancia = 0.2789 , la clorhexidina al 2% obtuvo una lectura promedio de absorbancia de 0.5678 a los 5 minutos de exposición , el hipoclorito de sodio al 5.25% obtuvo una lectura promedio de absorbancia de 1.0856 a los 5 minutos de exposición , el cloruro de sodio al 0.9% (grupo control) obtuvo una lectura promedio de absorbancia de 1.3067(43).

Además en la comparación de las 3 soluciones en cada tiempo ensayado se obtuvo diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ )(43).

El antecedente investigativo pretende investigar el efecto de la asociación de la cetrimida al 0.5% + clorhexidina al 2% , hipoclorito de sodio al 5.25% y clorhexidina al 2% sobre biofilm de *Enterococcus Faecalis* generado en filtros de nitrato de celulosa en tres tiempos diferentes el cual ayuda a la investigación en el planteamiento de la técnica (43).

## 5 HIPÓTESIS

Dado que el sinergismo de dos sustancias es una técnica que ayuda a repotenciar su efecto -, como la clorhexidina que una sustancia altamente bactericida y que presenta propiedades como la sustantividad que es la capacidad que tiene para mantener su efecto a través del tiempo. Y el hidróxido de calcio es una sustancia altamente bacteriostática y que tiene un Ph alcalino que ayuda a neutralizar el crecimiento bacteriano.

Es probable que exista diferencia significativa entre el efecto de hidróxido de calcio con clorhexidina al 2.5% y el efecto del hidroxido de alcio más agua destilada cuando entre en contacto el biofilm de *Enterococcus Faecalis* para disminuir la absorbancia cuya característica que indica el grado de crecimiento bacteriano.



# **CAPITULO II**

## **PLANTEAMIENTO OPERACIONAL**

## PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

### 1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS DE VERIFICACIÓN

#### 1.1 Técnica

##### a) Especificación de la técnica

Se utilizará la técnica de observación laboratorial experimental para recoger la información de la variable respuesta sobre la absorbancia de biofilm de *Enterococcus faecalis* in vitro conforme se ilustra en el siguiente cuadro.

##### b) Esquematización de la relación variable indicadores técnica

VARIABLE INVESTIGATIVA	INDICADORES	TÉCNICA
Absorbancia de Biofilm <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 29912	Absorbancia	Técnico de Observación Laboratorio Experimental
	Tiempo	

##### c) Caracterización y descripción de la técnica

- **Activación de La cepa de *Enterococcus Faecalis***

Se obtuvo la cepa certificada de *Enterococcus Faecalis* ATCC 29912 del Laboratorio de GenLab Del Perú. Para la activación de la cepa utilizamos el 6.24 gr de caldo BHI y de agua destilada 170 ml para realizar la mezcla y colocarlo en el autoclave a 121 C° por una hora

Luego abrimos la cepa certificada sellada se colocó en calor moderado y luego se procedió a colocarlos en dos matraz de 50 ml con BHI Y para llevarlo a la cámara de anaerobiosis a

37C° durante 24 horas Todos los procedimientos se realizaron en condiciones asépticas

- **Preparación de Agar KF**

Para la preparación de Agar Selectivo de KF se mezcló Agar selectivo KF con agua destilada y se calienta en fuego hasta que empieza en ebullición luego es retirado para que enfríe y se coloca 20 ml en las placa Petri y se lleva a refrigerar a 2-8 C° por 24 horas

- **Replicación de la Cepa De Enterococcus Faecalis**

Después de 24 horas que la cepa estuvo en la cámara de anaerobiosis se observó turbidez y sedimentación Luego se abre la placa Petri con las condiciones asépticas necesarias para el caso. Luego se utilizó asa de col para sembrar en estría simple en la placa Petri.

- **Preparación y Comparación de la escala Mc Farland y solución**

Se preparó una solución equivalente al estándar de 0.5 de Mc Farland con ácido sulfúrico y cloruro de sodio.

Se preparó un tubo de 10 ml de escala de Mc Farland y de caldo BHI. Luego se coloca colonias que se encuentran en las placa Petri hasta obtener una turbidez equivalente a 0.5 en la escala de Mc Farland ( $1 \times 10$  UFC/ML).

- **Obtención de Biofilm**

Luego de obtener la turbidez necesaria y que fue comparada con la escala de Mc Farland

Se utilizó una micropipeta de 20 ul de la solución ajustada a la escala de Mc Farland y se colocó en los discos de filtro de celulosa de 15 mm de diámetro de 0.22 de diámetro de los poros que fueron colocados sobre la superficie de placa Petri que contenían Agar KF selectivo Las placa Petri fueron rotuladas y selladas con cinta para fil y llevarlas a la estufa de anaerobiosis a 37 C° de CO<sub>2</sub> por 24 horas

- **Disolución de Biofilm**

Después de observar la presencia de Biofilm adherido en los discos que se encuentran en la superficie de la placa Petri se procede a realizar la disolución de los mismos en la medicación intraconducto que se va estudiar

Se procedió a pesar los medicamentos intraconducto de acuerdo a las especificaciones del fabricante como a continuación especificaremos .La medida fue en razón de 1/1 tanto para el hidróxido de calcio más clorhexidina e hidróxido de calcio más agua destilada Luego se prepararon los frascos con el medicamento intraconducto de hidróxido de calcio más clorhexidina al 2.5% y hidróxido de calcio más agua destilada y un frasco con agua destilada.

Luego que los medicamentos fueron medidos y mezclados respectivamente dentro de los frascos se procedió a colocar los discos de filtro dentro de los frascos con los medicamentos intraconducto por un minuto, cinco minutos y quince minutos.

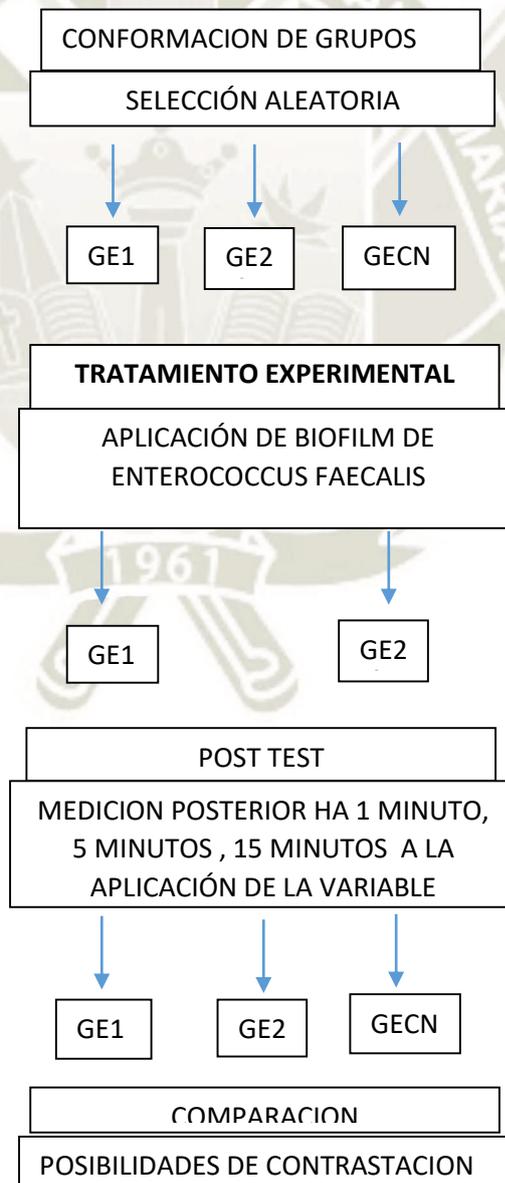
Después que paso el tiempo respectivo se retira y se colocaba en una solución neutralizante de agua destilada por unos segundos y luego fue colocada en el tubo con 4ml de caldo de BHI para reactivar el biofilm y Luego los tubos fueron colocados durante 24 horas a 37C° de CO<sub>2</sub>

- **Medición Con El Espectrofotómetro**

Luego de colocarlos los tubos con el caldo BHI durante 24 horas con 37C° CO<sub>2</sub> se procedió a medición de la absorbancia en el espectrofotometro

**d) Diseño Investigativo**

GE1	X	O2
GE2		O2
GCNE		O2



GRUPO MEDICION	GE1	GE2	GECN
Postest			

## 1.2 Instrumentos

### 1.2.1. Instrumento documental

Se utilizará instrumento de tipo elaborado denominado Ficha de Observación Laboratorial cuya estructura esquemática se encuentra en la parte inferior:

Medición	Variable	Indicadores	Subindicadores	Items
POST TEST	Absorbancia de Biofilm De Enterococcus Faecalis	Absorbancia	Longitud de onda (300-800) nm	1
		Tiempo	1 Minuto	1
			5 Minutos	2
			15 Minutos	3

### FICHA DE OBSERVACIÓN LABORATORIAL

**NOMBRE DE LA TESIS:**

**TESISTA:**

<b>MATERIAL</b>	GE1 <input type="checkbox"/> GE2 <input type="checkbox"/> GE3 <input type="checkbox"/>								
<b>TIPO DE MEDICIÓN</b>	<b>MEDICIÓN DE ABSORBANCIA DE BIOFILM</b>								
<b>TIEMPO</b>	<b>1 MINUTO</b>			<b>5 MINUTOS</b>			<b>15 MINUTOS</b>		
<b>N° DE MUESTRA</b>	516nm	555nm	536nm	516nm	555nm	536nm	516nm	555nm	536nm
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
11									
12									
13									

### 1.3 Instrumentos Mecánicos

- Autoclave
- Incubadora de anaerobiosis
- Espectrofotómetro BOECCO GERMANY
- Tripode
- Balanza eléctrica de precisión
- Reloj cronometrado con alarma
- Refrigeradora
- Cámara fotográfica

### 1.4 Materiales

- Tubos de ensayo estéril
- Probeta graduada de 150 ml
- Micropipetas graduadas 1000ul y 100ul
- Pinzas rectas estériles
- Placa Petri estériles
- Matraz de Erlenmeyer de
- Mechero
- Encendedor
- Asa de siembra
- Pala de siembra
- Porta asa de siembra
- Gradilla
- Estándar de 0.5 de MC.FARLAND
- Filtros de membrana de celulosa
- Tubos de ensayo de 10 ml y 5 ml
- Clorhexidina 2.5%
- Hidróxido de calcio
- Agua destilada
- Caldo BHI

- Agar KF
- Guantes
- Barbijos
- Hisopos

## 2. CAMPO DE VERIFICACIÓN

### 2.1 Ubicación Espacial

La Investigación se realizará en la ciudad de Arequipa, en el laboratorio de microbiología de la Universidad Católica Santa María

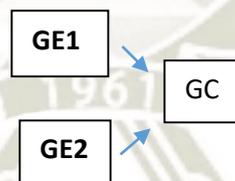
### 2.2 Ubicación temporal

La investigación se realizará durante el año 2017 ya que la información es recogida conforme van sucediendo los hechos

### 2.3 Unidades de estudio

Se eligió la opción de grupos, ya que es una investigación cuasi experimental

#### a. Identificación de los grupos



GE1 :	Clorhexidina 2.5% + Hidróxido de Calcio
GE2:	Hidróxido de Calcio +Agua Destilada
GC :	Agua Destilada
Biofilm :	Enterococcus Faecalis (ATCC 29212)

#### b. Criterios para igualar los grupos

Igualación cuantitativa

- **Criterio incluyente**

La muestra de clorhexidina sea 2.5%

La muestra debe ser clorhexidina y hidróxido de calcio en proporción 1/1

La muestra de hidróxido de calcio con agua destilada en proporción 1/1

- **Criterio Excluyente**

La muestra no sea clorhexidina de 2.5% sino sea a diferentes porcentajes

La muestra debe clorhexidina y hidróxido de calcio no sea proporción 1/1

La muestra de hidróxido de calcio no sea de la proporción 1/1

**c. Asignación de sujetos en cada grupo**

La conformación de los grupos de manera aleatoria

**d. Tamaño de grupo**

Se determinará mediante fórmula:

$$n = \frac{Z_{\alpha} \sqrt{2P(1-P)} + Z_{\beta} \sqrt{P_1(1-P_1) + P_2(1-P_2)}}{(P_1 - P_2)^2}$$

Criterios estadísticos:

- $Z_{\alpha}$  : 1.96
- $Z_{\beta}$  : 0.842
- $P_1$  : 0.95
- $P_2$  : 0.60
- $P$  :  $P_1 + P_2 = 0.77$

$$n = \frac{1.96 \sqrt{2(0.77)(1-0.77)} + 0.842 \sqrt{0.95(1-0.95) + 0.60(1-0.60)}}{(0.35)^2}$$

**n = 13**

#### e. Formalización de la muestra

GRUPOS	N°	TOTAL
GRUPO 1	13	39
GRUPO 2	13	
GRUPO 3	13	

### 3. ESTRATEGIAS DE RECOLECCIÓN

#### 3.1 Organización

- Autorización para utilizar el laboratorio de microbiología de la UCSM
- Compra de la cepa de *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212
- Preparación de las unidades de estudio
- Prueba piloto se va realiza 2 muestras por cada grupos

#### 3.2 Recursos

##### 3.2.1 Recursos Humanos

- **Investigador** : C.D. Ana Maritza Juárez Suero
- **Colaboradores** : Bachiller en Biotecnología Fabricio Jhonson Corrales
- **Asesor** : Dr.CD. Hair E.Salas Beltrán .

##### 3.2.2 Recursos Físicos

Laboratorio de microbiología de la UCSM

##### 3.2.3 Recursos Económicos

Propios del Investigador

##### 3.2.4 Recursos Institucionales

Universidad Católica Santa María

### 3.3 Validación del documento

3.3.1. Tipo de Prueba: Incluyente

3.3.2. Prueba Piloto: Se realizará 10% de las muestras

## 4. ESTRATEGIA DE MANEJO DE RESULTADOS

### 4.1 Plan de Procesamiento

**A. Tipo**

Manual y Computarizada

**B. Operaciones**

**C. Ordenamiento**

- Se registraron los datos de manera manual

**D. Codificación**

- Se codificaron los datos por una cantidad de signos

**E. Recuento**

- Se realizó de manera manual

**F. Tabulación**

- Se emplearán tablas numéricas y simples

**G. Graficación**

- Se emplea gráficos de barras

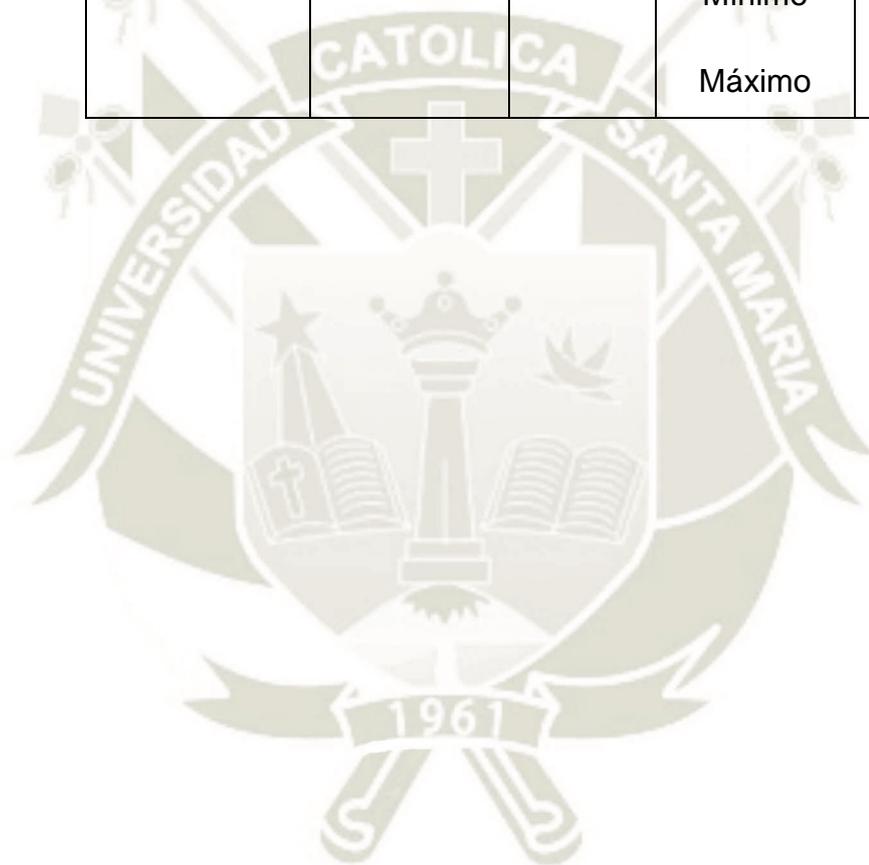
### 4.2 Plan de análisis

**a. Tipo de análisis**

Cuantitativo – trifactorial y univariado

**b. Tratamiento Estadístico**

Variable	Tipo	Escala	Estadística descriptiva	Prueba Estadístico
Enterococcus Faecalis	Cuantitativo	De Razón	Media Desviación típico Mínimo Máximo	Test de student ANOVA Tuckey



#### IV CRONOGRAMA

TIEMPO ACTIVIDAD	AÑO 2017																																				
	ABRIL				MAYO				JUNIO				JULIO				AGOSTO				SEPTIEMBRE				OCTUBRE				NOVIEMBRE				DICIEMBRE				
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	
Presentation de Proyecto				X																																	
Aceptación de Proyecto																X																					
Recolección de datos																									X	X	X	X	X								
Estructuración de resultados																																	X	X	X		
Informe final																																				X	



## **CAPITULO III**

### **RESULTADOS**

**TABLA N° 1**  
**COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE EL**  
**HIDRÓXIDO DE CALCIO MÁS CLORHEXIDINA 2.5% Y HIDRÓXIDO DE**  
**CALCIO MÁS AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 1 MINUTO DE CONTACTO**  
**CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA 2017**

<b>MEDIDAS DESCRIPTIVAS</b>	<b>ABSORBANCIA DE HIDRÓXIDO DE CALCIO MÁS CLORHEXIDINA 2.5 %</b>	<b>ABSORBANCIA DE HIDRÓXIDO DE CALCIO MÁS AGUA DESTILADA</b>
<b>PROMEDIO</b>	0.459	0.027
<b>DESVIACIÓN ESTÁNDAR</b>	0.205	0.016
<b>COEFICIENTE DE VARIACIÓN</b>	2%	0.13%
<b>MÍNIMO</b>	0.205	0.004
<b>MÁXIMO</b>	0.696	0.062
<b>N° DE MUESTRAS</b>	13	13
to= 9.95 (p<0.05)		

Fuente: Matriz De Registro y Control  
Elaboración propia del autor

**LEYENDA:**

to = Test De Student

<b>FUENTE DE VARIACIÓN</b>	<b>GRADOS DE LIBERTAD</b>	<b>SUMA DE CUADRADOS</b>	<b>MEDIA DE CUADRADOS</b>	<b>F</b>
<b>TRATAMIENTOS</b>	2	- 3.253	1.627	7.636
<b>ERROR</b>	36	7.664	0.213	
<b>TOTAL</b>	38	10.917		
$f(0.05, 2, 36) = 7.64$				
$F = 3.23$				

<b>COMPARACIÓN DE PROMEDIOS CON HSD</b>			
<b>MEDICAMENTO INTRADCONDUCTO DE HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA AL 2.5% , HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA Y GRUPO CONTROL</b>			
<b>GRUPO I –GRUPO II</b>	0.459-0.027 = 0.432	0.448 > 0.21	P<0.05
<b>GRUPO II –GRUPO III</b>	0.027-0.575 = - 0.548	0.548 >0.21	P<0.05
<b>GRUPO I –GRUPO III</b>	0.459- -0.575 = 0.116	0.116<0.21	P<0.05

Fuente: Matriz De Registro y Control

Elaboración propia del autor

**LEYENDA:**

**F**= Proporción

**HSD**= Honestly Significant Difference

**Interpretación:**

Según los resultados obtenidos en la tabla N° 1 nos muestra la comparación de ambos materiales de estudio para determinar cuál de los dos materiales tiene una menor absorbancia cuando está en contacto con el biofilm de una cepa certificada de *Enterococcus Faecalis* por un 1 minuto de tiempo. Se observó que el *Hidróxido De Calcio Mas Clorhexidina Al 2.5%* presento un valor *promedio* de 0.459 con una *desviación estándar* 0.205 y un *coeficiente de variación* de 2%. Mientras que El *Hidróxido De Calcio Más Agua Destilada* presento un valor *promedio* 0.027 con una *desviación estándar* 0.016 y un *coeficiente de variación* 0.13% .

De acuerdo a la prueba de *Test De Student* entre ambos materiales existe una diferencia significativa .indicando que el hidróxido de calcio más clorhexidina es

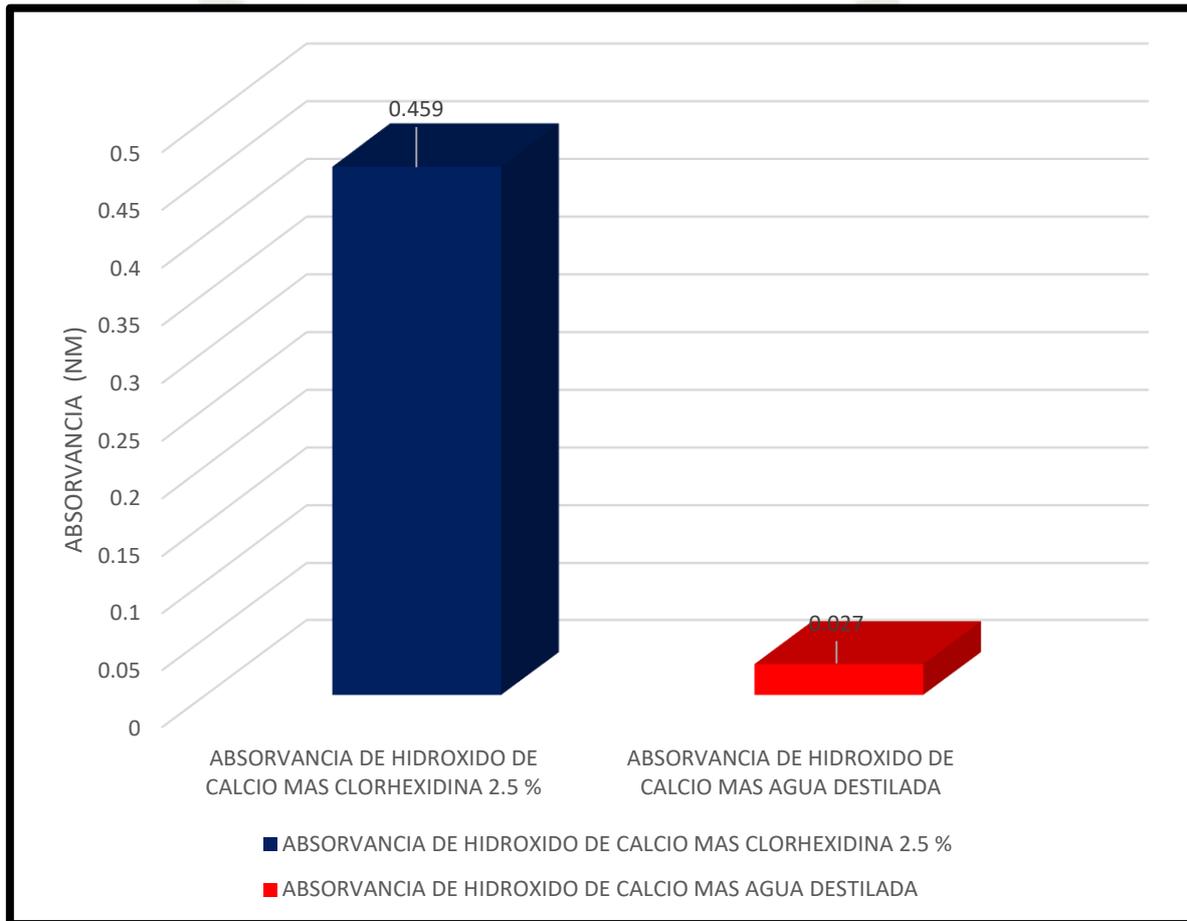
diferente que el hidróxido de calcio más agua destilada lo cual confirma que ambos materiales son distintos. Para establecer cuál de los dos materiales es mejor al tiempo establecido realice la prueba de ANOVA y confirmo que existe una diferencia significativa entre ambos materiales pero de acuerdo a la *Prueba De Tuckey* resulto que *El Hidróxido De Calcio Mas Agua Destilada* tiene un mejor efecto cuando está en contacto al 1 minuto con el biofilm de *Enterococcus Faecalis*.

Como se puede apreciar en los resultados antes mencionados la combinación de *Hidróxido De Calcio Más Clorhexidina Al 2.5%* tuvo una absorbancia mayor que el *Hidróxido De Calcio Mas Agua Destilada* después de estar en contacto por un lapso de 1 minuto esto se debe a diferentes razones que mencionaremos a continuación :

Que la clorhexidina es una bisguanida que al ser mezclado con el hidróxido de calcio tarde un lapso de tiempo en compenetrarse totalmente ya que se sabe que por sus características físicas presenta una ligera acuosidad lo cual impide que el material de hidróxido de calcio se compenetre rápidamente.

También como dice *Shen y cols* que la clorhexidina tiene un efecto bactericida inferior al 1 y 3 minutos de contacto y recupera su efecto bactericida a los 5 y 10 minutos

**GRÁFICO N° 1**  
**COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE**  
**EL HIDRÓXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5% Y HIDRÓXIDO DE**  
**CALCIO MAS AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 1 MINUTO DE CONTACTO**  
**CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA 2017**



Fuente : Matriz de registro y control

Elaboración propia del autor

**TABLA N° 2**  
**COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE**  
**EL HIDRÓXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5% Y LA MUESTRA DE**  
**AGUA DESPUÉS DE 1 MINUTO DE CONTACTO CON BIOFILM DE**  
**ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA 2017**

<b>MEDIDAS DESCRIPTIVAS</b>	<b>ABSORVANCIA DE HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5 %</b>	<b>ABSORVANCIA DE LA MUESTRA CONTROL (AGUA )</b>
<b>PROMEDIO</b>	0.459	0.575
<b>DESVIACION ESTANDAR</b>	0.205	0.010
<b>COEFICIENTE DE VARIACION</b>	2%	0.8%
<b>MINIMO</b>	0.205	0.498
<b>MAXIMO</b>	0.696	0.776
<b>N° DE MUESTRAS</b>	13	13
to= 2.03 (p<0.05)		

Fuente: Matriz De Registro y Control

Elaboración propia del autor

**LEYENDA:**

to = Test De Student

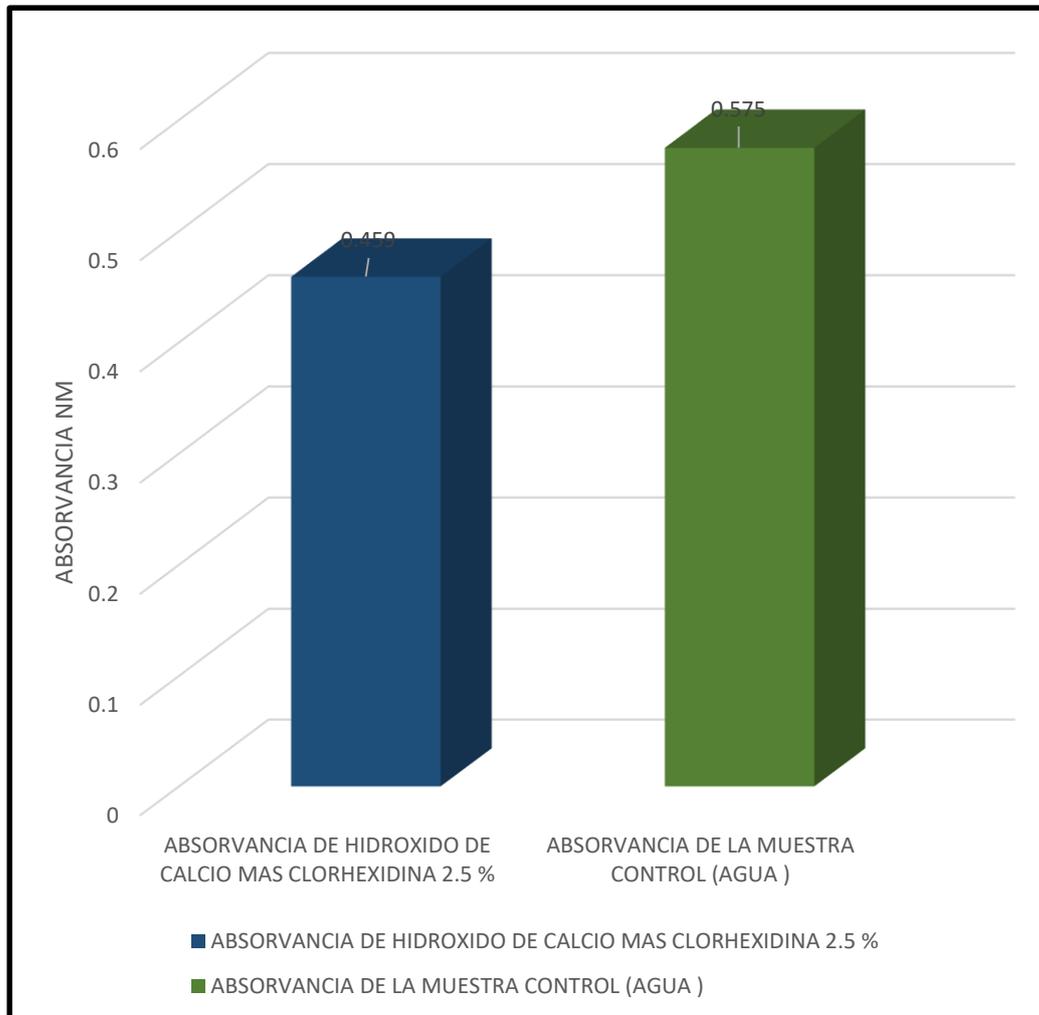
### Interpretación:

Según los resultados obtenidos en la tabla N° 02 muestra la comparación que existe entre el *Hidróxido De Calcio Más Clorhexidina Al 2.5%* y la muestra control para determinar su efectividad del medicamento cuando está en contacto del biofilm de la *Cepa Certificada De Enterococcus Faecalis* en comparación con una muestra placebo que no contiene sustancias bactericidas. Se observó que el medicamento de *Hidróxido De Calcio Mas Clorhexidina Al 2.5%* presento una absorbancia *promedio* de 0.459, con una *desviación estándar* 0.205 y un *coeficiente de variación* de 2% .Mientras que la muestra control que esta conformado por agua destilada presento una absorbancia *promedio* de 0.575 con una *desviación estándar* de 0.010 y un *coeficiente de variación* de 0.8%.

Para establecer si es que ambas sustancias son distintas se realizó la prueba de *T de Student* para comparar los promedios de ambos grupos de estudios se encontró que existe una diferencia significativa entre el *Hidróxido De Calcio Mas Clorhexidina Y La Muestra Control* ( $p < 0.05$ ). Significando que ambos grupos de estudios son diferente

Como se puede apreciar el medicamento conformado por *hidróxido de calcio más clorhexidina al 2.5%* tiene una absorbancia menor que la muestra control que solo contenía agua destilada esto demuestra que la clorhexidina tiene un efecto bactericida sobre el biofilm homogéneo de *Enterococcus Faecalis* de acuerdo a las cifras mostradas su efecto es mínimo ya que de acuerdo a los resultado se debe al proceso por el que pasa la clorhexidina para complementarse completamente con el hidróxido de calcio ya que ambas sustancias son distintas ya que una es una sal fuerte y la otra es un ácido y que presentan características físicas totalmente distinta por una parte la clorhexidina se encuentra en forma líquida y acuosa con un Ph ácido y el hidróxido de calcio es un ácido con un Ph alcalino y se encuentra en polvo .

**GRÁFICO N° 2**  
**COMPARACIÓN DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE EL**  
**HIDRÓXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5% Y LA MUESTRA DE**  
**AGUA DESPUÉS DE 1 MINUTO DE CONTACTO CON BIOFILM DE**  
**ENTEROCOCCUS FAECALIS , AREQUIPA 2017**



Fuente: Matriz De Registro y Control

Elaboración propia del autor

**TABLA N° 3**  
**COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE**  
**EL HIDRÓXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA Y LA MUESTRA DE**  
**AGUA DESPUÉS DE 1 MINUTO DE CONTACTO CON BIOFILM DE**  
**ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA 2017**

<b>MEDIDAS DESCRIPTIVAS</b>	<b>ABSORBANCIA DE HIDRÓXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA</b>	<b>ABSORBANCIA DE LA MUESTRA CONTROL (AGUA )</b>
<b>PROMEDIO</b>	0.027	0.575
<b>DESVIACIÓN ESTÁNDAR</b>	0.016	0.097
<b>COEFICIENTE DE VARIACIÓN</b>	0.13%	0.8%
<b>MÍNIMO</b>	0.004	0.498
<b>MÁXIMO</b>	0.062	0.776
<b>N° DE MUESTRAS</b>	13	13
$T_o = 11.6 > 0.05$		

Fuente: Matriz De Registro y Control

Elaboración propia del autor

**LEYENDA:**

to = Test De Student

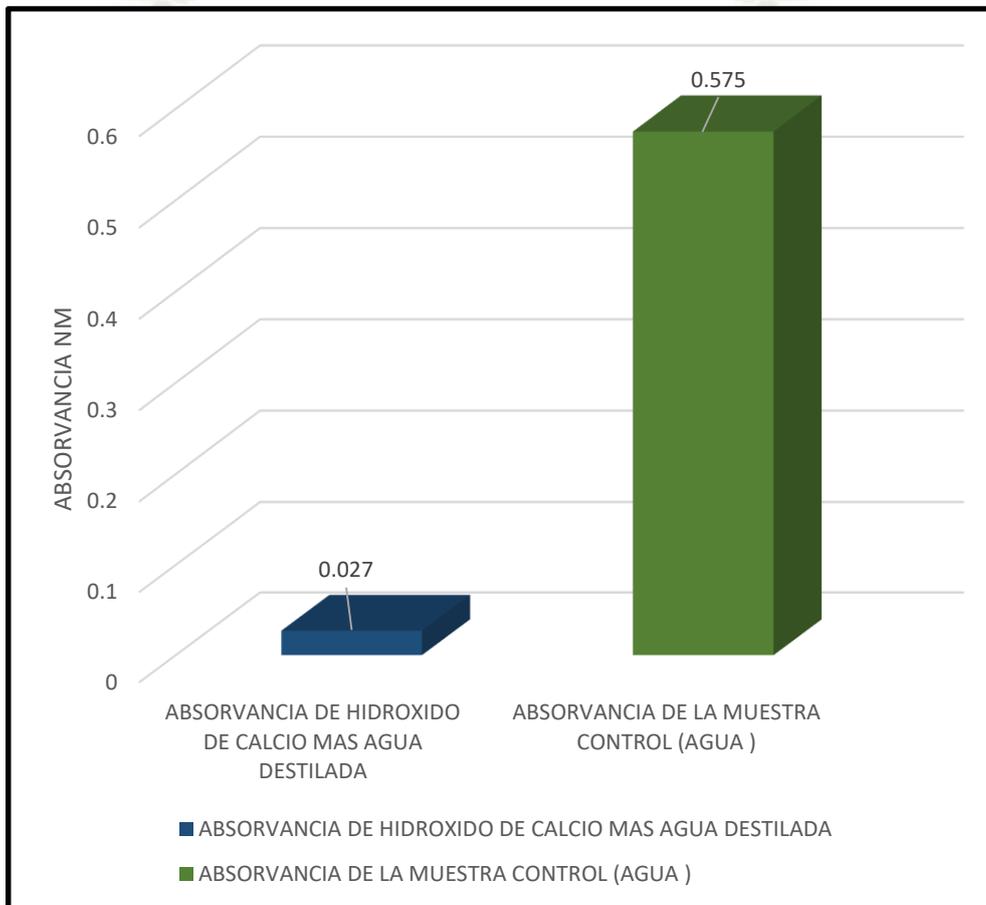
### Interpretación:

Según los resultados obtenidos en la tabla N° 3 muestra la comparación que existe entre el *hidróxido De Calcio Mas Agua Destilada* y la *Muestra Control* para determinar la efectividad del medicamento cuando está en contacto con el biofilm homogéneo de *Enterococcus Faecalis* durante 1 minuto en comparación con una muestra placebo que no contiene sustancias bactericidas ni antisépticas. Se observó que el *Medicamento Hidróxido De Calcio Mas Agua Destilada* presento una *absorbancia promedio* de 0.027, con una *desviación estándar* 0.016 y un *coeficiente de variación* de 0.13%, mientras que la *muestra control* que está conformado por agua destilada presento una *absorbancia promedio* de 0.575 con una *desviación estándar* de 0.097 y un *coeficiente de variación* de 0.8%.

Según la prueba de T de Student al realizar la comparación de los promedios de ambos grupos de estudios se encontró que existe una diferencia significativa entre el hidróxido de calcio más agua y la muestra control ( $p < 0.05$ ). Significando que ambos grupos de estudios son diferente.

Como se puede apreciar el medicamento conformado por hidróxido De Calcio Mas Agua Destilada tiene una absorbancia menor que la muestra control que solo contenía agua destilada esto demuestra que el medicamento intraconducto antes mencionado si tiene un efecto positivo sobre la bacteria anaerobia facultativa de *Enterococcus Faecalis* ya que causa en ella menor grado de turbidez impidiendo su reproducción y eliminándola. Esto se debe a que el hidróxido de calcio hidroliza la parte lipídica de la capa de polisacáridos que forma las bacterias anaerobias ocasionando la destrucción bacteriana.

**GRÁFICO N° 3**  
**COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE EL**  
**HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA Y LA MUESTRA DE**  
**AGUA DESPUÉS DE 1 MINUTO DE CONTACTO CON BIOFILM DE**  
**ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA 2017**



Fuente: Matriz De Registro y Control

**TABLA N° 4**  
**COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE EL**  
**HIDRÓXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5%, HIDROXIDO DE**  
**CALCIO MAS AGUA DESTILADA Y AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 5**  
**MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS**  
**FAECALIS, AREQUIPA 2017**

<b>MEDIDAS DESCRIPTIVAS</b>	<b>ABSORBANCIA DE HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5 %</b>	<b>ABSORBANCIA DE HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA</b>
<b>PROMEDIO</b>	0.011	1.318
<b>DESVIACION ESTANDAR</b>	0.009	0.18
<b>COEFICIENTE DE VARIACION</b>	0.08%	1.50%
<b>MINIMO</b>	0.004	0.911
<b>MAXIMO</b>	0.042	1.558
<b>N° DE MUESTRAS</b>	13	13
to= 26.14(p<0.05)		

Fuente: Matriz De Registro y Control

Elaboración propia del autor

**LEYENDA:**

to = Test De Student

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F
TRATAMIENTOS	2	-22.437	-11.218	-10.235
ERROR	36	39.472	1.096	
TOTAL	38	17.035		
$f(0.05, 2, 36) = 10.24$				
$F = 3.23$				

<b>COMPARACION DE PROMEDIOS CON HSD</b>			
<b>MEDICAMENTO INTRADCONDUCTO DE HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA AL 2.5% , HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA Y GRUPO CONTROL</b>			
<b>GRUPO I –GRUPO II</b>	0.011-1.318 =1.307	1.307 > 0.47	P<0.05
<b>GRUPO II –GRUPO III</b>	1.318 -1.400 = 0.082	0.082<0.47	P<0.05
<b>GRUPO I –GRUPO III</b>	0.011- -1.400 =1.389	1.389>0.47	P<0.05

Fuente: Matriz De Registro y Control

Elaboración propia del autor

**LEYENDA:**

**F**= Proporción

**HSD**= Honestly Significant Difference

### Interpretación:

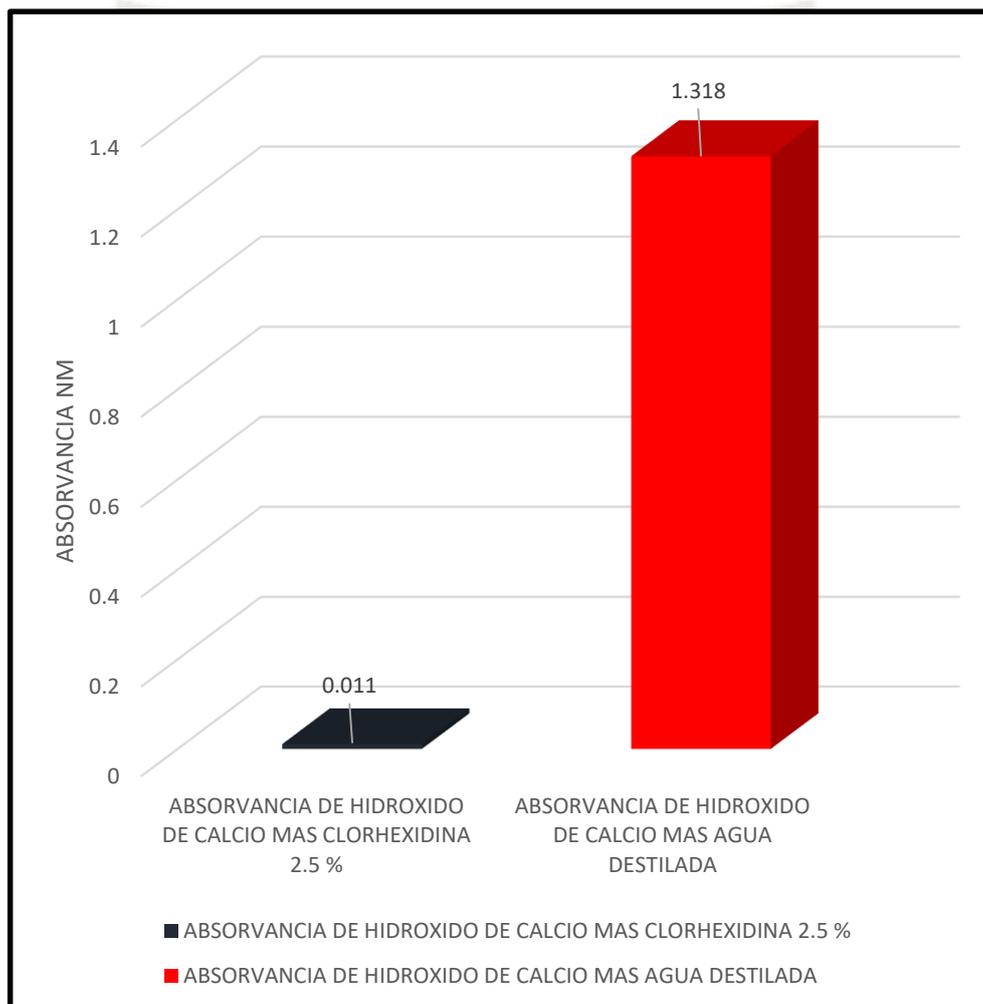
Según los resultados obtenidos en la tabla N° 4 nos muestra la comparación de ambos materiales de estudio para determinar cuál de los dos materiales tiene una menor absorbancia lo que significa cuál de los dos causa menor turbidez por ende menor crecimiento bacteriano y provoca mayor destrucción de bacterias cuando está en contacto con el Biofilm de una cepa certificada de *Enterococcus Faecalis* por un tiempo de 5 minutos de contacto.

Se observó que el *Hidróxido De Calcio Mas Clorhexidina Al 2.5%* presentó un valor promedio de 0.011 con una desviación estándar 0.009 y un coeficiente de variación de 0.08%. Mientras que el *Hidróxido De Calcio más Agua Destilada* presentó un valor promedio 1.318 con una desviación estándar 0.18 y un coeficiente de variación 1.5%. Para establecer si presenta una diferencia significativa se aplicó la prueba estadística de *Test De Student* ( $p < 0.05$ ) en la cual dio como resultado que existe una diferencia significativa entre ambos materiales. En cuanto a su efecto se estableció la *prueba de ANOVA* que confirma que existe una diferencia significativa entre ambos materiales como antes ya lo mencionamos.

Para establecer cuál de los dos materiales tuvo mejor efecto a los 5 minutos de contacto con el biofilm se realizó la *prueba de Tuckey* en la cual resultó que el mejor material a los 5 minutos es el *Hidróxido De Calcio Más Clorhexidina* y que tiene un efecto superior que el *Hidróxido De Calcio Más Agua Destilada*.

Como se puede apreciar en los resultados antes mencionados la combinación de *hidróxido de calcio más clorhexidina al 2.5%* tuvo una absorbancia menor que el *hidróxido de calcio más agua destilada* después de estar en contacto por un lapso de 5 minutos, nos demuestra que la clorhexidina a los cinco minutos tuvo un efecto inhibitorio superior ocasionando menor grado de turbidez lo que significa que redujo el crecimiento bacteriano de manera eficaz a diferencia del hidróxido de calcio más agua destilada. Esto se debe a que la clorhexidina es una molécula bi catiónica con carga positiva que es capaz de ser atraída por la carga negativa de la membrana lipídica del biofilm para producir la absorción lo cual es reforzada por la acción del hidróxido de calcio que tiene la capacidad de hidrolizar la capa lipídica ocasionando la destrucción de la bacteria ..

**GRÁFICO N° 4**  
**COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE EL**  
**HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5% , HIDROXIDO DE**  
**CALCIO MAS AGUA DESTILADA Y AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 5**  
**MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS**  
**FAECALIS, AREQUIPA 2017**



Fuente: Matriz De Registro y Control

Elaboración propia del autor

**TABLA N° 5**  
**COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE**  
**EL HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5% Y MUESTRA**  
**CONTROL DE AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 5 MINUTOS DE**  
**CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS ,**  
**AREQUIPA 2017**

<b>MEDIDAS DESCRIPTIVAS</b>	<b>ABSORBANCIA DE HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5 %</b>	<b>ABSORBANCIA DE LA MUESTRA CONTROL DE AGUA DESTILADA</b>
<b>PROMEDIO</b>	0.011	1.400
<b>DESVIACIÓN ESTÁNDAR</b>	0.009	0.27
<b>COEFICIENTE DE VARIACIÓN</b>	0.08%	2.24%
<b>MÍNIMO</b>	0.004	1.087
<b>MÁXIMO</b>	0.042	2.020
<b>N° DE MUESTRAS</b>	13	13
to=18.52 (p<0.05)		

Fuente: Matriz De Registro y Control

Elaboración propia del autor

**LEYENDA:**

to = Test De Student

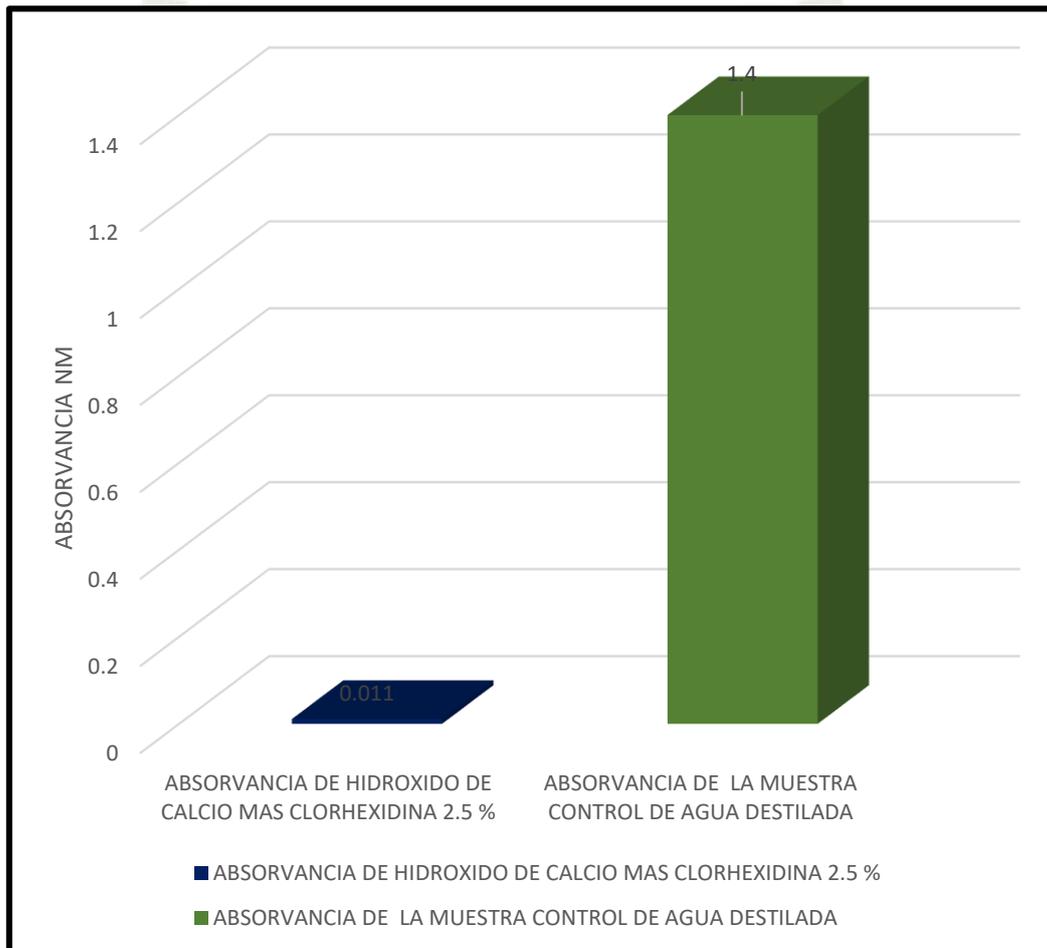
### Interpretación:

Según los resultados obtenidos en la tabla N° 5 muestra la comparación que existe entre el hidróxido de calcio más clorhexidina al 2.5% y la muestra control para determinar su efectividad del medicamento cuando está en contacto del biofilm de *Enterococcus Faecalis* en comparación con una muestra placebo que no contiene sustancias bactericidas. Se observó que el medicamento hidróxido de calcio más clorhexidina al 2.5% presento una *absorbancia promedio* de 0.011, con una *desviación estándar* 0.009 y un *coeficiente de variación* de 0.08%. Mientras que la muestra control que está conformado por agua destilada presento una *absorbancia promedio* de 1.400 con una *desviación estándar* de 0.27 y un *coeficiente de variación* de 2.24%.

Según la prueba de *T de Student* ( $p < 0.05$ ), al realizar la comparación de los promedios de ambos grupos de estudios se encontró que existe una diferencia significativa entre el hidróxido de calcio más clorhexidina y la muestra control Significando que ambos grupos de estudios son diferente

Como se puede apreciar el medicamento conformado por hidróxido de calcio más clorhexidina al 2.5% tiene una absorbancia menor que la muestra control que solo contenía agua destilada esto demuestra que la clorhexidina tiene un efecto bactericida sobre el biofilm homogéneo de *Enterococcus Faecalis* de acuerdo a las cifras mostradas su efecto es superior esto se debe a las propiedades de absorción de la clorhexidina de ser atraída por la carga negativa de la membrana lipídica del biofilm y por la capacidad de hidrolizar del hidróxido de calcio. Si bien se sabe que la clorhexidina tiene una molécula de gran tamaño que es la razón por la cual no le permite el paso de la membrana pero el efecto hidrolizante del hidróxido de calcio facilita esta acción debilitando a la membrana lipídica y permitiendo su paso para producir la destrucción bacteriana.

**GRÁFICO N° 5**  
**COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORVANCIA (NM) MEDIDA ENTRE EL**  
**HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5% Y MUESTRA**  
**CONTROL DE AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 5 MINUTOS DE**  
**CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA**  
**2017**



Fuente: Matriz De Registro y Control

Elaboración propia del autor

**TABLA N° 6**  
**COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE EL**  
**HIDRÓXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA Y LA MUESTRA**  
**CONTROL DESPUÉS DE 5 MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE**  
**ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA 2017**

<b>MEDIDAS DESCRIPTIVAS</b>	<b>ABSORVANCIA DE HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA</b>	<b>ABSORVANCIA DE MUESTRA CONTROL</b>
<b>PROMEDIO</b>	1.318	1.400
<b>DESVIACION ESTANDAR</b>	0.18	0.27
<b>COEFICIENTE DE VARIACION</b>	1.50%	2.24%
<b>MINIMO</b>	0.911	1.087
<b>MAXIMO</b>	1.558	2.020
<b>N° DE MUESTRAS</b>	13	13
to=0.91 (p<0.05)		

Fuente: Matriz De Registro y Control

Elaboración propia del autor

**LEYENDA:**

to = Test De Student

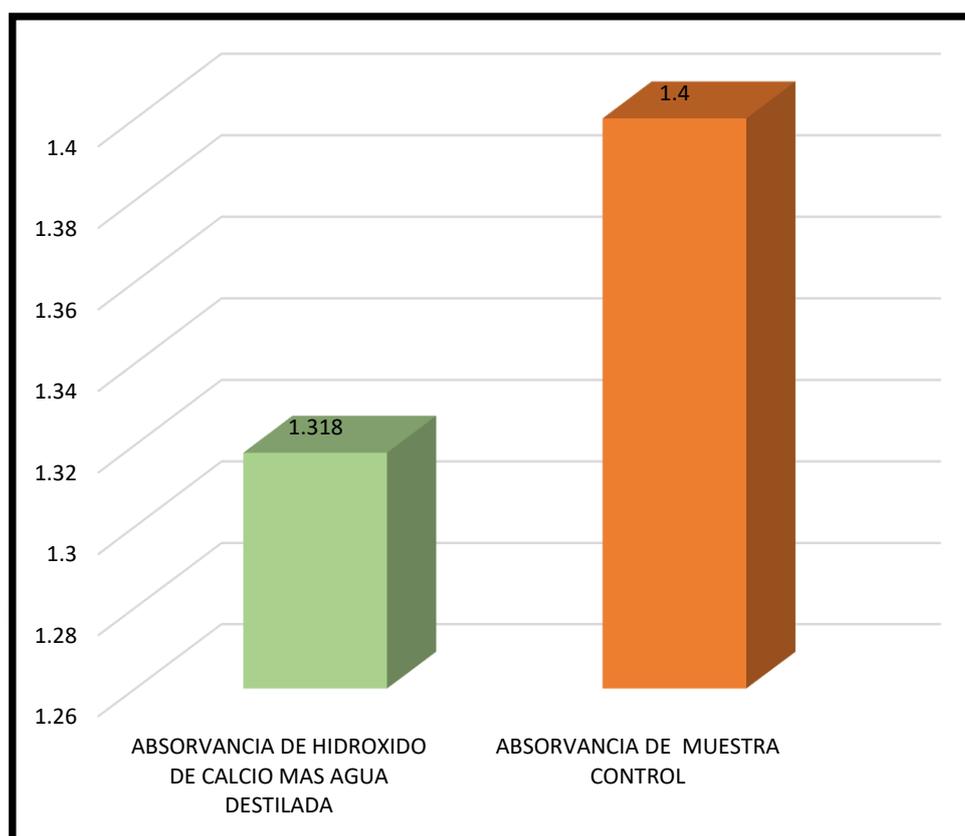
**Interpretación:**

Según los resultados obtenidos en la tabla N° 6 muestra la comparación que existe entre el *hidróxido de calcio más clorhexidina al 2.5%* y la muestra control para determinar su efectividad del medicamento cuando está en contacto del biofilm de *Enterococcus Faecalis* en comparación con una muestra placebo que no contiene sustancias bactericidas. Se observó que el medicamento hidróxido de calcio más Agua Destilada presento una *absorbancia promedio* de 1.318 con una *desviación estándar* 0.018 y un *coeficiente de variación* de 1.50% .Mientras que la muestra control que está conformado por agua destilada presento una *absorbancia promedio* de 1.400 con una *desviación estándar* de 0.27 y un *coeficiente de variación* de 2.24%.

Según la prueba de *T de Student* ( $p < 0.05$ ).al realizar la comparación de los promedios de ambos grupos de estudios se encontró que no existe una diferencia significativa entre el hidróxido de calcio más agua destilada y la muestra control Significando que ambos grupos de estudios no son diferente

Como se puede apreciar el medicamento conformado por *hidróxido de calcio más agua destilada* tiene una absorbancia menor que la muestra control que solo contenía agua destilada esto demuestra que el hidróxido de calcio presenta tiene un efecto bactericida menor sobre el biofilm homogéneo de *Enterococcus Faecalis* de acuerdo a las cifras mostradas.

**GRÁFICO N° 6**  
**COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE**  
**EL HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA Y MUESTRA**  
**CONTROL DESPUÉS DE 15 MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE**  
**ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA 2017**



Fuente: Matriz De Registro y Control

Elaboración propia del autor

**TABLA N° 7**  
**COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE**  
**EL HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5%, HIDROXIDO DE**  
**CALCIO MAS AGUA DESTILADA Y AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 15**  
**MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS**  
**FAECALIS, AREQUIPA 2017**

<b>MEDIDAS DESCRIPTIVAS</b>	<b>ABSORVANCIA DE HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA AL 2.5%</b>	<b>ABSORVANCIA DE HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA</b>
<b>PROMEDIO</b>	0.018	0.144
<b>DESVIACION ESTANDAR</b>	0.011	0.218
<b>COEFICIENTE DE VARIACION</b>	0.08%	1.80%
<b>MINIMO</b>	0.005	0.065
<b>MAXIMO</b>	0.039	0.538
<b>N° DE MUESTRAS</b>	13	13
<b>to=2.8 (p&lt;0.05)</b>		

Fuente: Matriz De Registro y Control

Elaboración propia del autor

**LEYENDA:**

to = Test De Student

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F
TRATAMIENTOS	2	-4.770	-2.385	3.90
ERROR	36	27.976	0.610	
TOTAL	38	10.206		
$f(0.05, 2.36) = 3.23$				
$F = 3,90$				

COMPARACIÓN DE PROMEDIOS CON HSD			
MEDICAMENTO INTRADCONDUCTO DE HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA AL 2.5% , HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA Y GRUPO CONTROL			
GRUPO I –GRUPO II	0.018-0.144 =0.126	0.126 <0.36	P<0.05
GRUPO II –GRUPO III	0.144 -1.426 = - 1.282	1.282>0.36	P<0.05
GRUPO I –GRUPO III	0.018- 1.426 =1.408	1.408>0.47	P<0.05

Fuente : Matriz De Registro y Control

Elaboración propia del autor

**LEYENDA:**

**F**= Proporción

**HSD**= Honestly Significant Difference

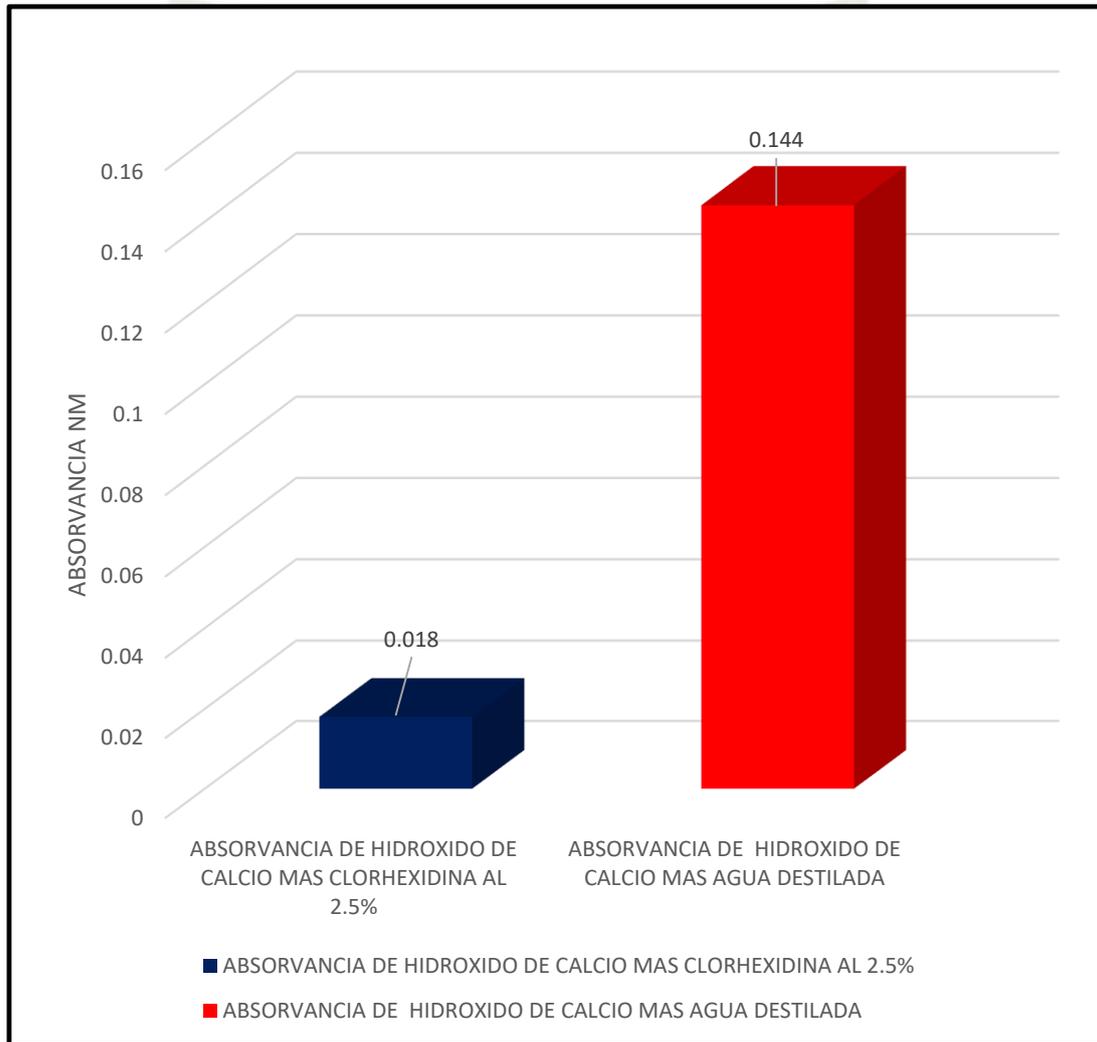
## Interpretación

Según los resultados obtenidos en la tabla N° 7 nos muestra la comparación de ambos materiales de estudio para determinar cuál de los dos materiales tiene una menor absorbancia cuando está en contacto con el Biofilm de una cepa certificada de *Enterococcus Faecalis* por un 15 minuto de tiempo. Se observó que el *Hidróxido De Calcio Mas Clorhexidina Al 2.5%* presento un valor promedio de 0.018 con una desviación estándar 0.011 y un *coeficiente de variación* de 0.08% .Mientras que el *hidróxido de calcio mas agua destilada* presento un valor promedio 0.144 con una desviación estándar 0.218 y un *coeficiente de variación* 1.8%. Para establecer la diferencia significativa se aplicó la prueba estadística de *Test De Student* en la cual dio como resultado que existe una diferencia significativa entre ambos materiales

Para establecer cuál de los dos materiales es mejor se realizó la *Prueba Estadística De ANOVA* que confirma que existe una diferencia significativa entre ambos materiales como antes ya lo mencionamos .y mediante la *Prueba De Tuckey* ( $p < 0.05$ ) en la cual resulto que ambos materiales son buenos .

Como se puede apreciar en los resultados antes mencionados la combinación de *hidróxido de calcio más clorhexidina al 2.5%* tuvo una absorbancia menor que el *hidróxido de calcio más agua destilada* después de estar en contacto por un lapso de 15 minuto , nos demuestra que la clorhexidina a los quince minutos tuvo un efecto inhibitorio superior ocasionando que presente menor grado de turbidez lo que significa que redujo el crecimiento bacteriano de manera eficaz a diferencia del hidróxido de calcio más agua destilada; pero hay un detalle que llama la atención que si bien el hidróxido de calcio más clorhexidina es un material que mantuvo su efecto inhibitorio a partir de los 5 minutos mientras que el hidróxido de calcio más agua destilada fue de manera diferente. esto se debe a la propiedad que tiene la clorhexidina de sustantividad es decir que mantiene su efecto bactericida por un determinado tiempo de manera uniforme y constante mientras que el hidróxido de calcio no fue así. Por esa razón digo que el medicamento intraconducto de hidróxido de calcio más clorhexidina es mejor porque tiene la propiedad de sustantividad que le da la capacidad de mantener un efecto inhibitorio superior a través del tiempo.

**GRÁFICO N° 7**  
**COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE**  
**EL HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5% Y HIDROXIDO DE**  
**CALCIO MAS AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 15 MINUTOS DE**  
**CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS , AREQUIPA**  
**2017**



Fuente : Matriz De Registro y Control

Elaboración propia del autor

**TABLA N° 8**  
**COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORVANCIA (NM) MEDIDA ENTRE EL**  
**HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5% Y MUESTRA**  
**CONTROL DE AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 15 MINUTOS DE**  
**CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS , AREQUIPA**  
**2017**

<b>MEDIDAS DESCRIPTIVAS</b>	<b>ABSORVANCIA DE HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA AL 2.5%</b>	<b>ABSORVANCIA DE LA MUESTRA CONTROL DE AGUA DESTILADA</b>
<b>PROMEDIO</b>	0.018	1.426
<b>DESVIACION ESTANDAR</b>	0.011	0.265
<b>COEFICIENTE DE VARIACION</b>	0.08%	2.20%
<b>MINIMO</b>	0.006	1.053
<b>MAXIMO</b>	0.039	1.674
<b>N° DE MUESTRAS</b>	13	13
to=201.14 (p<0.05)		

Fuente: Matriz De Registro y Control

Elaboración propia del autor

**LEYENDA:**

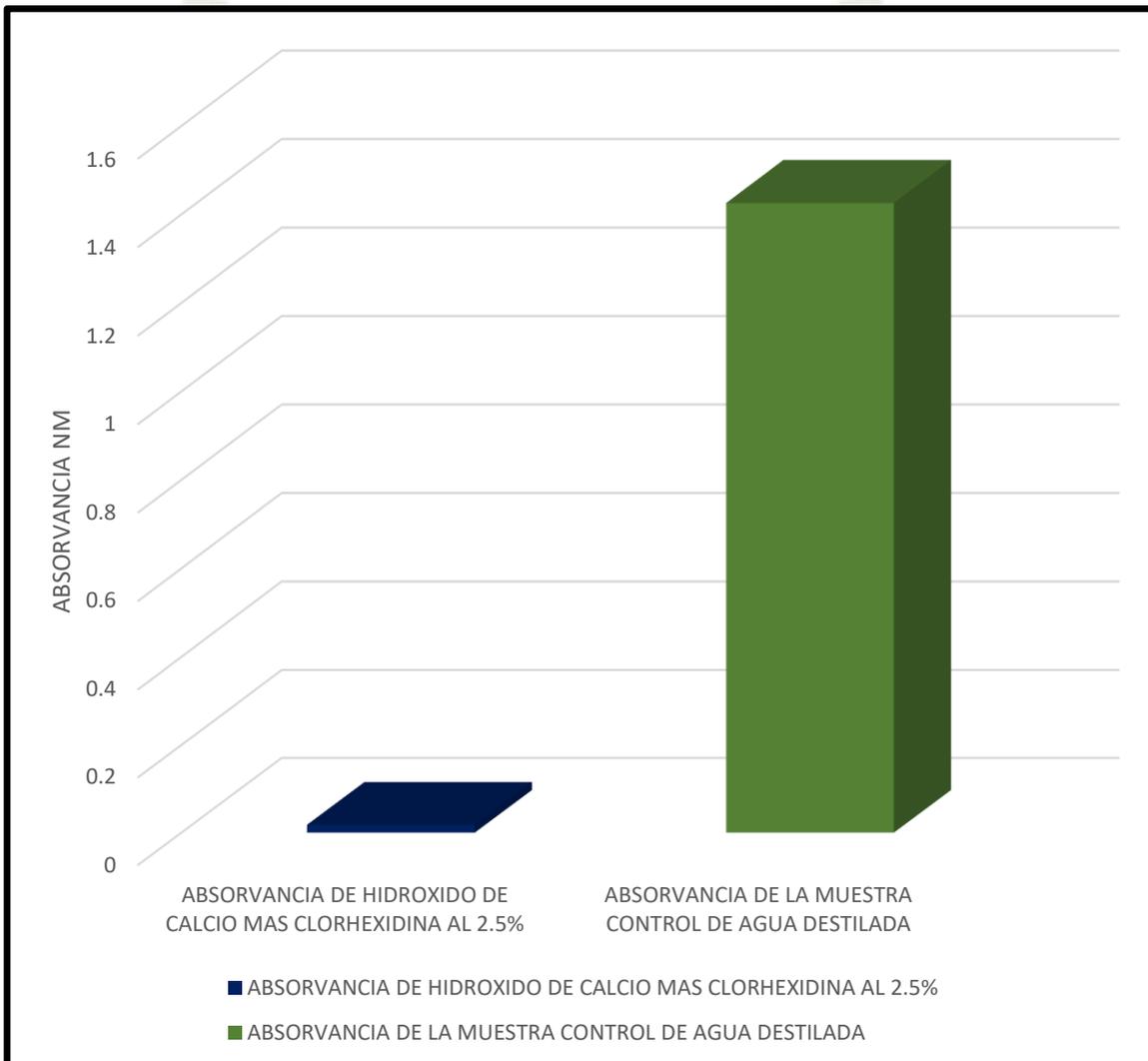
to = Test De Student

### Interpretación:

Según los resultados obtenidos en la tabla N° 8 muestra la comparación que existe entre el *hidróxido de calcio más clorhexidina al 2.5%* y la muestra control para determinar su efectividad del medicamento cuando está en contacto del biofilm de *Enterococcus Faecalis* en comparación con una muestra placebo que no contiene sustancias bactericidas. Se observó que el medicamento *hidróxido de calcio más clorhexidina al 2.5%* presento una absorbancia promedio de 0.018, con una desviación estándar 0.018y un coeficiente de variación de 0.08% .Mientras que la muestra control que está conformado por agua destilada presento una absorbancia promedio de 1.426 con una desviación estándar de 0.265y un coeficiente de variación de 2.20%. Según la prueba de T de Student al realizar la comparación de los promedios de ambos grupos de estudios se encontró que existe una diferencia significativa entre el hidróxido de calcio más clorhexidina y la muestra control ( $p < 0.05$ ). Significando que ambos grupos de estudios son diferente

Como se puede apreciar el medicamento conformado por *hidróxido de calcio más clorhexidina al 2.5%* tiene una absorbancia menor que la muestra control que solo contenía agua destilada esto demuestra que la clorhexidina tiene un efecto bactericida sobre el biofilm homogéneo de *Enterococcus Faecalis* de acuerdo a las cifras mostradas su efecto es superior esto se debe a las propiedades de absorción y sustantividad de la clorhexidina de tiene una atracción química por la membrana lipídica del biofilm y por la capacidad de hidrolizar del hidróxido de calcio .Si bien se sabe que la clorhexidina tiene una molécula de gran tamaño que es la razón por la cual no le permite el paso de la membrana pero el efecto hidrolizante del hidróxido de calcio facilita esta acción debilitando a la membrana lipídica y permitiendo su paso para producir la destrucción bacteriana .

**GRÁFICO N° 8**  
**COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE**  
**EL HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5% Y MUESTRA**  
**CONTROL DE AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 15 MINUTOS DE**  
**CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA**  
**2017**



Fuente: Matriz De Registro y Control

Elaboración propia del autor

**TABLA N° 9**  
**COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE**  
**EL HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA Y LA MUESTRA**  
**CONTROL DE AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 15 MINUTOS DE**  
**CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS , AREQUIPA**  
**2017**

<b>MEDIDAS DESCRIPTIVAS</b>	<b>ABSORBANCIA DE HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA</b>	<b>ABSORBANCIA DE LA MUESTRA CONTROL DE AGUA DESTILADA</b>
<b>PROMEDIO</b>	0.144	1.426
<b>DESVIACION ESTANDAR</b>	0.218	0.265
<b>COEFICIENTE DE VARIACION</b>	1.80%	2.20%
<b>MINIMO</b>	0.065	1.053
<b>MAXIMO</b>	0.538	1.674
<b>N° DE MUESTRAS</b>	13	13
to=13.49 (p<0.05)		

Fuente: Matriz De Registro y Control

Elaboración propia del autor

**LEYENDA:**

to = Test De Student

**Interpretación:**

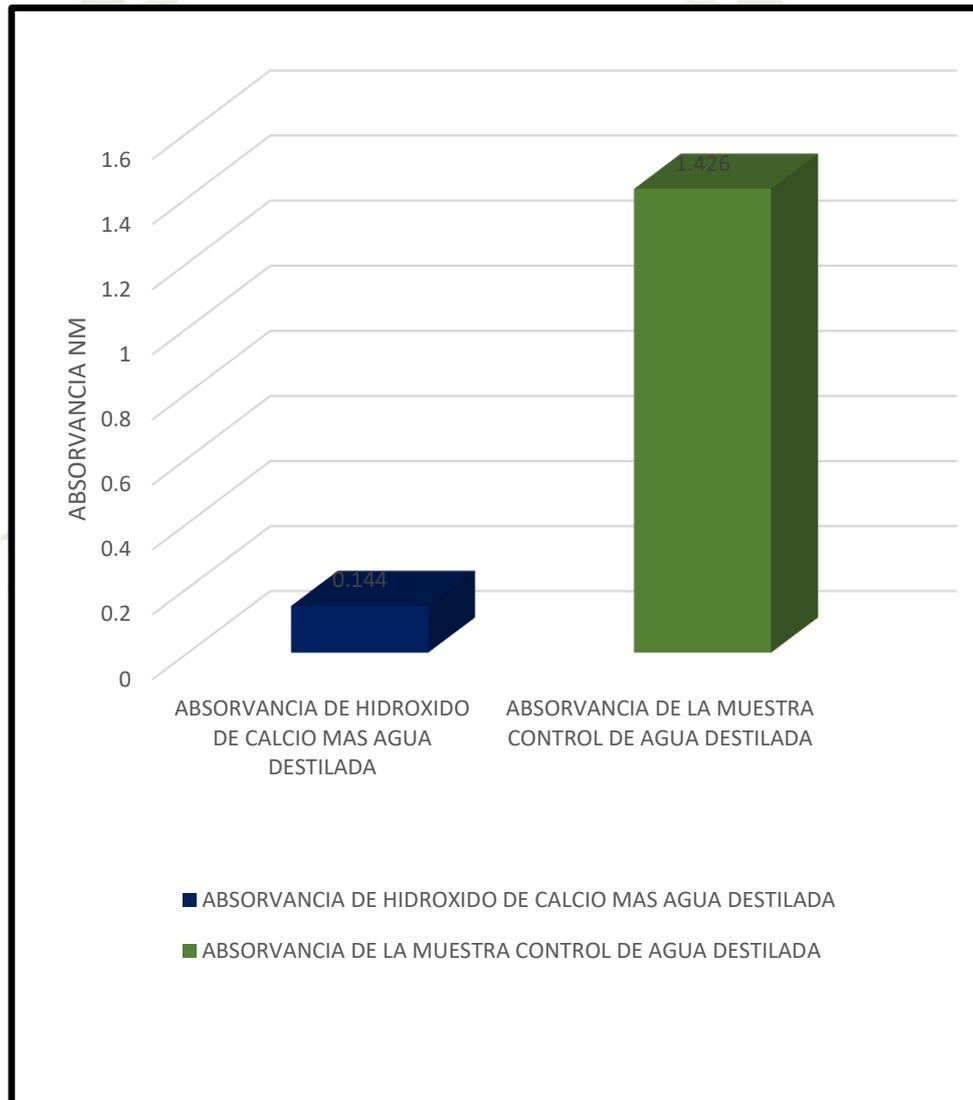
Según los resultados obtenidos en la tabla N° 9 muestra la comparación que existe entre el *hidróxido De Calcio Mas Agua Destilada* y la *Muestra Control* para determinar la efectividad del medicamento cuando está en contacto con el biofilm homogéneo de *Enterococcus Faecalis* en comparación con una muestra placebo que no contiene sustancias bactericidas ni antisépticas. Se observó que el *Medicamento Hidróxido De Calcio Mas Agua Destilada* presento una *absorbancia promedio* de 0.144, con una *desviación estándar* 0.218 y un *coeficiente de variación* de 1.80%, mientras que la *muestra control* que está conformado por agua destilada presento una *absorbancia promedio* de 1.426 con una *desviación estándar* de 0.265 y un *coeficiente de variación* de 2.20%.

Según la prueba de T de Student al realizar la comparación de los promedios de ambos grupos de estudios se encontró que existe una diferencia significativa entre el hidróxido de calcio más agua y la muestra control ( $p < 0.05$ ). Significando que ambos grupos de estudios son diferente

Como se puede apreciar el medicamento conformado por *hidróxido De Calcio Mas Agua Destilada* tiene una absorbancia menor que la muestra control que solo contenía agua destilada esto demuestra que el medicamento intraconducto antes mencionado si tiene un efecto positivo sobre la bacteria anaerobia facultativa de *Enterococcus Faecalis* ya que causa en ella menor grado de turbidez impidiendo su reproducción y eliminándola causando así menor grado de turbidez.

Esto se debe a que el hidróxido de calcio hidroliza la parte lipídica de la capa de polisacáridos que forma las bacterias anaerobias ocasionando la destrucción bacteriana.

**GRÁFICO N° 9**  
**COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE**  
**EL HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA Y LA MUESTRA**  
**CONTROL DE AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 15 MINUTOS DE**  
**CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS,**  
**AREQUIPA 2017**



Fuente: Matriz De Registro y Control

Elaboración propia del autor

**TABLA N° 10**  
**COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA DEL**  
**HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5% AL 1 MINUTO, 5**  
**MINUTOS Y 15 MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE**  
**ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA 2017**

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F
TRATAMIENTOS	2	0.3985	0.1993	2.625
ERROR	36	2.7325	0.075	
TOTAL	38	2.334		
$f(0.05, 2.36) = 2.65$				
$F = 3.23$				

COMPARACION DE PROMEDIOS CON HSD			
MEDICAMENTO INTRADCONDUCTO DE HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA AL 2.5%			
GRUPO I –GRUPO II	0.459-0.011 = 0.448	0.448 < 0.741	P<0.05
GRUPO II –GRUPO III	0.011-0.018 [=] 0.07	0.07 <0.741	P<0.05
GRUPO I –GRUPO III	0.459- -0.018 = 0.441	0.441<0.741	P<0.05

Fuente: Matriz Registro Y Control

Elaboración propia del autor

**LEYENDA:**

**F=** Proporción

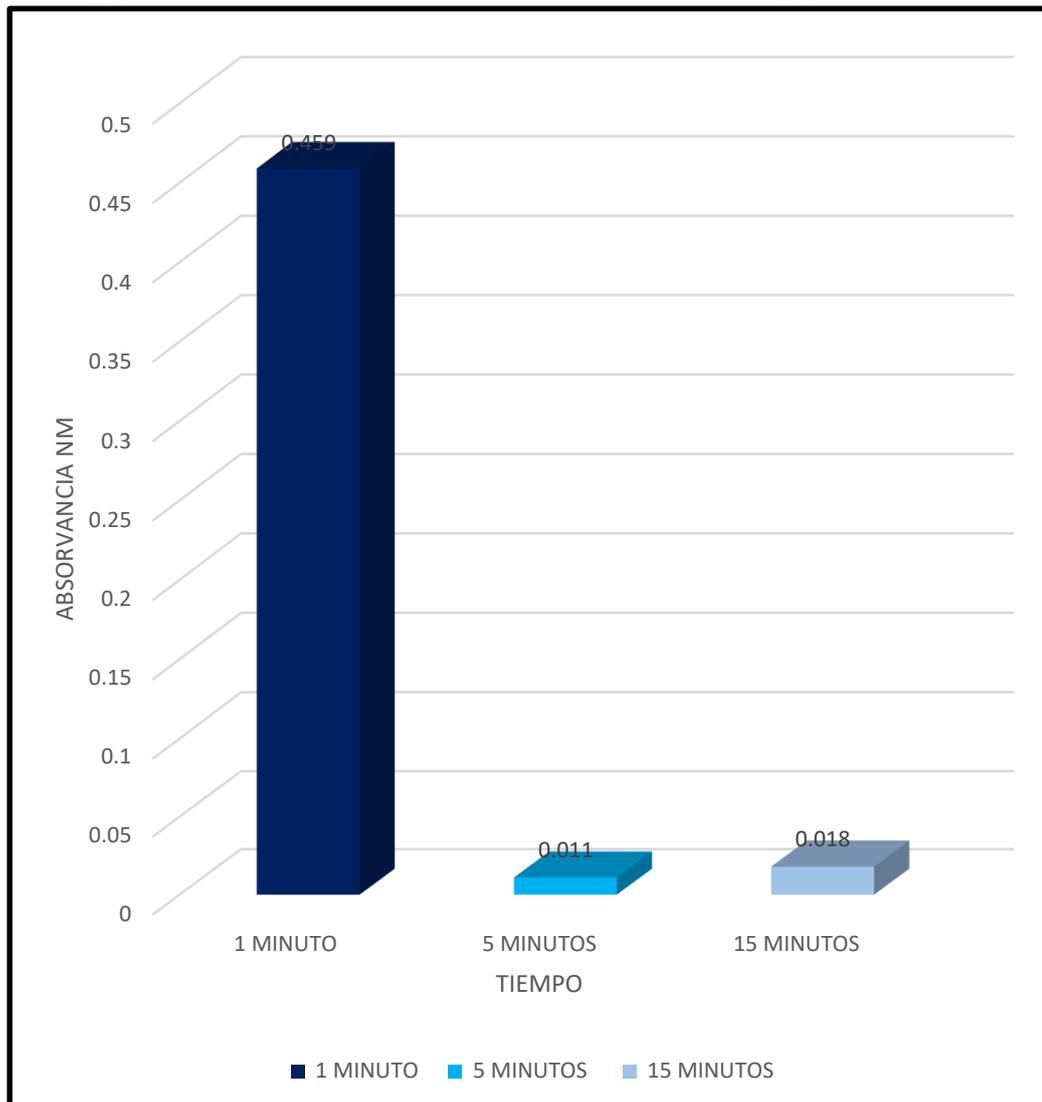
**HSD=** Honestly Significant Difference

### Interpretación:

Según la Prueba De Análisis De Varianza ANOVA , al realizar la comparación de los promedios del medicamento intraconducto conformado por hidróxido de calcio más clorhexidina al 2.5% después de 1 , 5, 15 minutos de contacto con el biofilm de *Enterococcus Faecalis* determino que no encontró una diferencia significativa entre los resultados ya obtenidos ( $P < 0.05$ ). Dichos resultados se debe a la propiedad de sustentividad de la clorhexidina , como ya se observó los promedios de absorbancia de la clorhexidina nos demuestra que tiene un efecto bactericida , pero también nos demuestra que el medicamento intraconducto conformado por *hidróxido de calcio más clorhexidina* es un medicamento estable a partir de los 5 minutos presentando una absorbancia contante y progresiva de actividad bactericida de acuerdo a la concentración que presenta también se debe recalcar que la clorhexidina también tiene un efecto bacteriostático a menores concentraciones pero en el estudio que presido la concentración que manejamos es alta para producir una respuesta bactericida . Si bien al 1 minuto dicho medicamento presenta un comportamiento hostil y rebelde pero aun así tiene una actividad bacteriana y esto se debe a que la clorhexidina demora un tiempo en compenetrarse con el hidróxido de calcio ya que ambos son de diferente , pero como se ha observado a los 5 minutos ejercieron una acción bactericida muy bueno que lo mantuvieron a los 15 minuto lo cual no evidencia la capacidad de sustentividad de la clorhexidina . Se concluye diciendo que la clorhexidina tiene propiedades bactericida y de sustentividad mientras que el hidróxido de calcio presenta propiedades bactericidas .

Para establecer en que tiempo el hidróxido de calcio más clorhexidina tiene un efecto bactericida superior se realizó la *Prueba De Tuckey* en la cual se comparó los promedios obtenidos a 1 minuto, 5 minutos, 15 minutos dando como resultado que el valor de la mejor absorbancia se da a los 5 minutos ya que es el tiempo en la cual ejerce una actividad bactericida superior. Entonces el hidróxido de calcio más clorhexidina ejerce su máximo efecto es a los 5 minutos de contacto con el biofilm homogéneo de *Enterococcus Faecalis*.

**GRÁFICO N° 10**  
**COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA ENTRE EL**  
**HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA 2.5% Y HIDROXIDO DE**  
**CALCIO MAS AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 1 MINUTO ,5 MINUTOS Y**  
**15 MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS**  
**FAECALIS, AREQUIPA 2017**



Fuente: Matriz De Registro y Control

Elaboración propia del autor

**TABLA N° 11**

**COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA DEL  
HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA 2.5% AL 1 MINUTO ,5  
MINUTOS Y 15 MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE  
ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA 2017**

<b>FUENTE DE VARIACIÓN</b>	<b>GRADOS DE LIBERTAD</b>	<b>SUMA DE CUADRADOS</b>	<b>MEDIA DE CUADRADOS</b>	<b>F</b>
<b>TRATAMIENTOS</b>	2	-4.747	2.3735	4.941
<b>ERROR</b>	36	21.238	0.589	
<b>TOTAL</b>	38	16.492		
$f(0.05, 2, 36) = 4.941$				
$F = 3.23$				

<b>COMPARACIÓN DE PROMEDIOS CON HSD</b>			
<b>MEDICAMENTO INTRADCONDUCTO DE HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA</b>			
<b>GRUPO I –GRUPO II</b>	0.027-1.318= - 1.291	1.291 > 0.37	P<0.05
<b>GRUPO II –GRUPO III</b>	1.318 -0.144 = 1.174	1.174 > 0.37	P<0.05
<b>GRUPO I –GRUPO III</b>	0.027- -0.144 = 0.12	0.12 < 0.37	P<0.05

Fuente: Matriz De Registro y Control

Elaboración propia del autor

**LEYENDA:**

**F**= Proporción

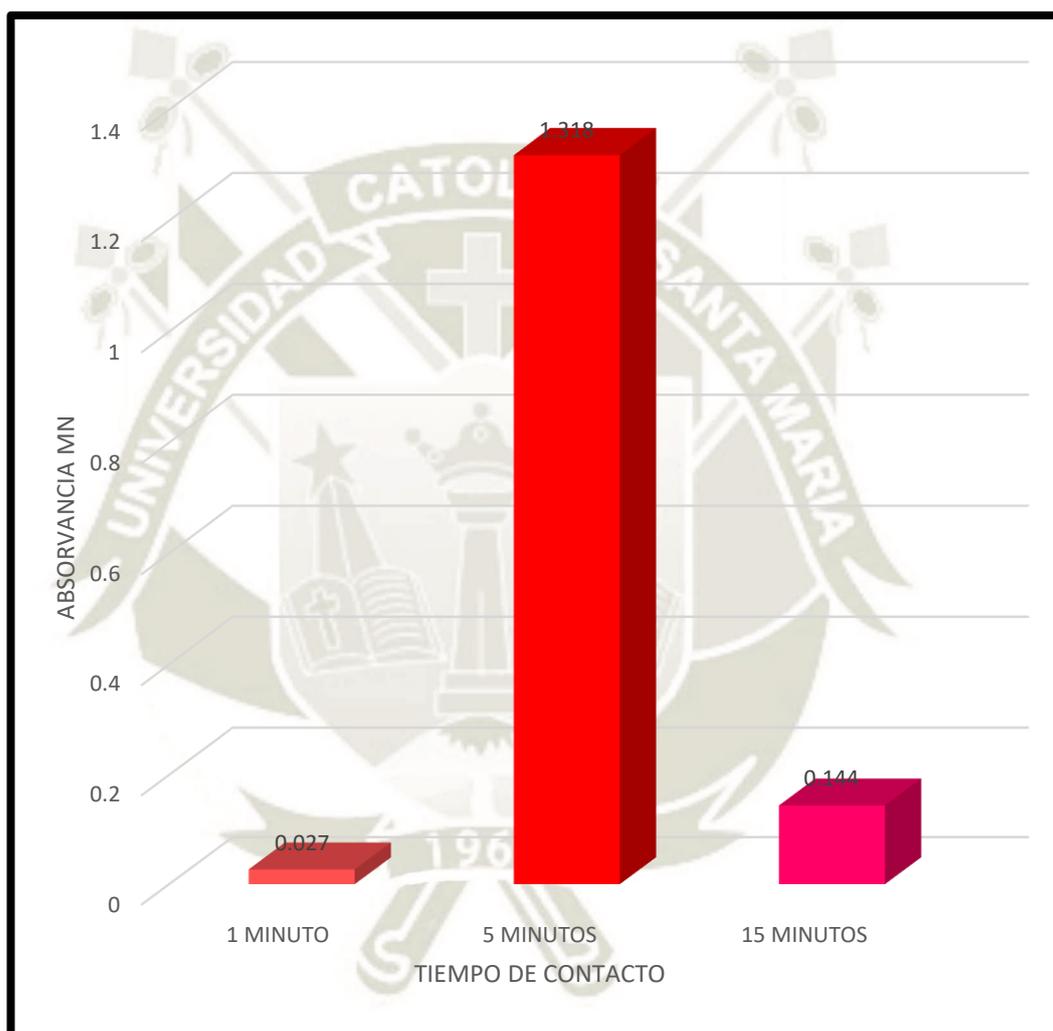
**HSD**= Honestly Significant Difference

**Interpretación:**

Según la prueba de *Análisis De Varianza*(ANOVA), al realizar la comparación de los promedios del medicamento intraconducto conformado por hidróxido de calcio más agua destilada después de 1, 5, 15 minutos de contacto con el biofilm de *Enterococcus Faecalis* se encontró una diferencia significativa entre los resultados ya obtenidos ( $P < 0.05$ ). Esto se debe a actividad heterogénea e inestable que presenta el hidróxido de calcio en cada uno de los tiempos ya que el hidróxido de calcio ejerce una actividad bactericida que no está reforzada con otro compuesto es decir que los resultados que hemos obtenidos son netamente del hidróxido de calcio tal cual es

Para evaluar el tiempo en el que el hidróxido de calcio ejerce una mejor actividad bactericida se realizó *La Prueba De Tuckey* en la cual se comparó los promedios obtenidos a 1 minuto, 5 minutos, 15 minutos y el valor de la mejor absorbancia se da a los 1 minutos ya que es el tiempo en el cual ejerce una actividad bactericida superior eso significa que a diferencia del anterior medicamento el hidróxido de calcio más agua destilada presenta una actividad bactericida inmediata. Pero inestable que va disminuyendo conforme pasa el tiempo.

**GRÁFICO N° 11**  
**COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) MEDIDA DEL**  
**HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA 2.5% AL 1 MINUTO ,5**  
**MINUTOS Y 15 MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE**  
**ENTEROCOCCUS FAECALIS , AREQUIPA 2017**



Fuente : Matriz De Registro y Control

Elaboración propia del autor

**TABLA N° 12**

**COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) PROMEDIO ENTRE EL HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA Y HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 1 MINUTO, 5 MINUTOS Y 15 MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS , AREQUIPA 2017**

	TIEMPO					
	1 MINUTO		5 MINUTO		15 MINUTOS	
	HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLOREXIDINA AL 2.5%	HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA	HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLOREXIDINA AL 2.5%	HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA	HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLOREXIDINA AL 2.5%	HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA
<b>PROMEDIO</b>	0.459	0.027	0.011	1.318	0.018	0.144
<b>DESVIACION ESTANDAR</b>	0.205	0.016	0.009	0.18	0.011	0.218
<b>MINIMO</b>	0.205	0.004	0.004	0.911	0.006	0.065
<b>MAXIMO</b>	0.696	0.062	0.042	1.558	0.039	0.538
<b>N° DE MUESTRA</b>	13	13	13	13	13	13

Fuente: Matriz de Registro y Control

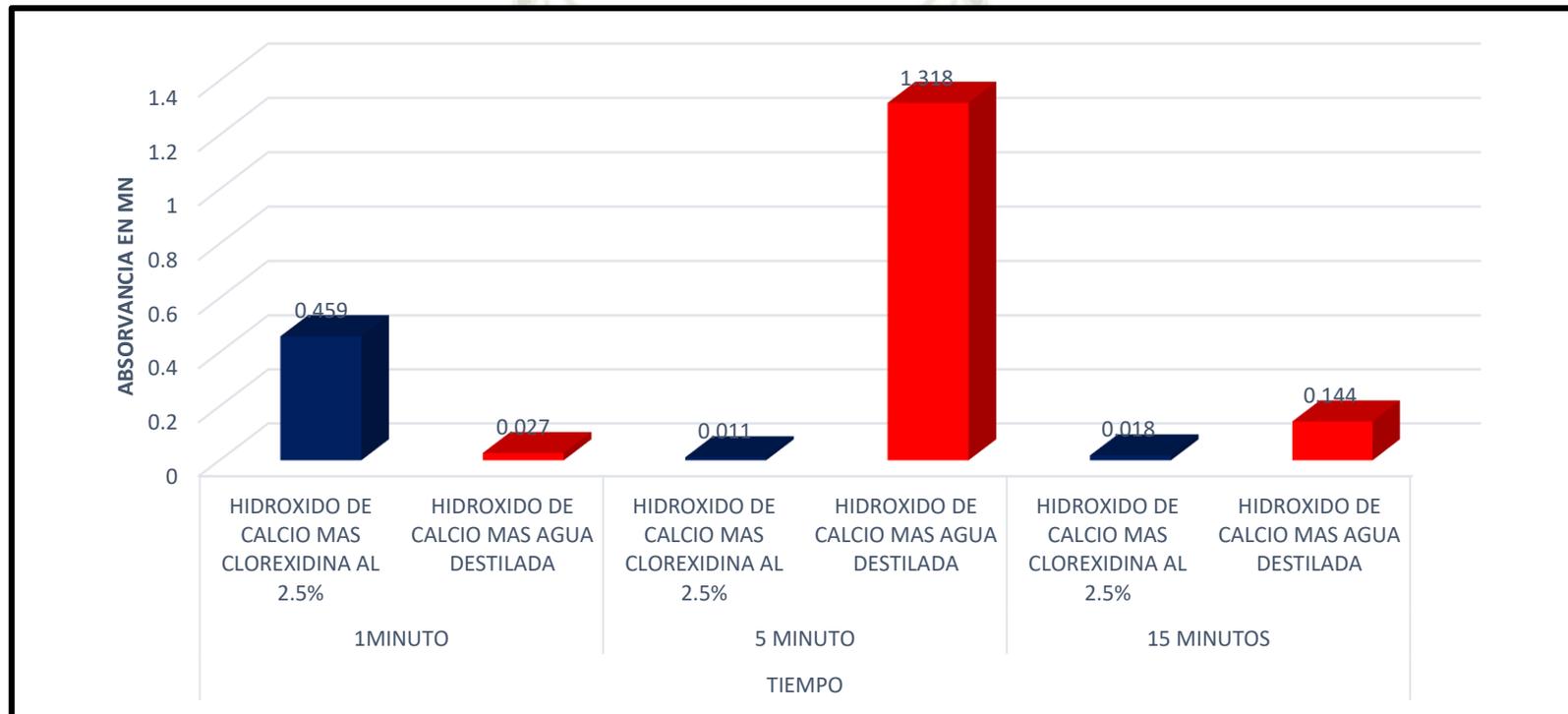
## Interpretación

Según la tabla N° 12 se especifica las absorbancias promedio de los tres tiempos en la cuales se contactó los medicamento intraconducto en la cual se observa que el Hidróxido de calcio más clorhexidina tiene un comportamiento inicial menos ventajoso pero al pasar el tiempo su efecto bactericida aumenta de manera abrupta y se mantiene de manera constante con una pequeña variación .Mientras que el hidróxido de calcio presento resultado bactericidas superiores en un primer momento a diferencia del hidróxido de calcio más clorhexidina al 2.5% pero nos muestra que tiene un comportamiento inestable y que va reduciendo a medida que pasa el tiempo evidenciando un efecto bactericida menor .

Entonces se concluye que el *hidróxido de calcio más clorhexidina* es un medicamento que tiene una actividad bactericida mediata mientras que el *hidróxido de calcio más agua destilada* tiene una actividad bactericida inmediata

**GRÁFICO N° 12**

**COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ABSORBANCIA (NM) PROMEDIO ENTRE EL HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA AL 2.5% Y HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 1 MINUTO , 5 MINUTOS Y 15 MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS , AREQUIPA 2017**

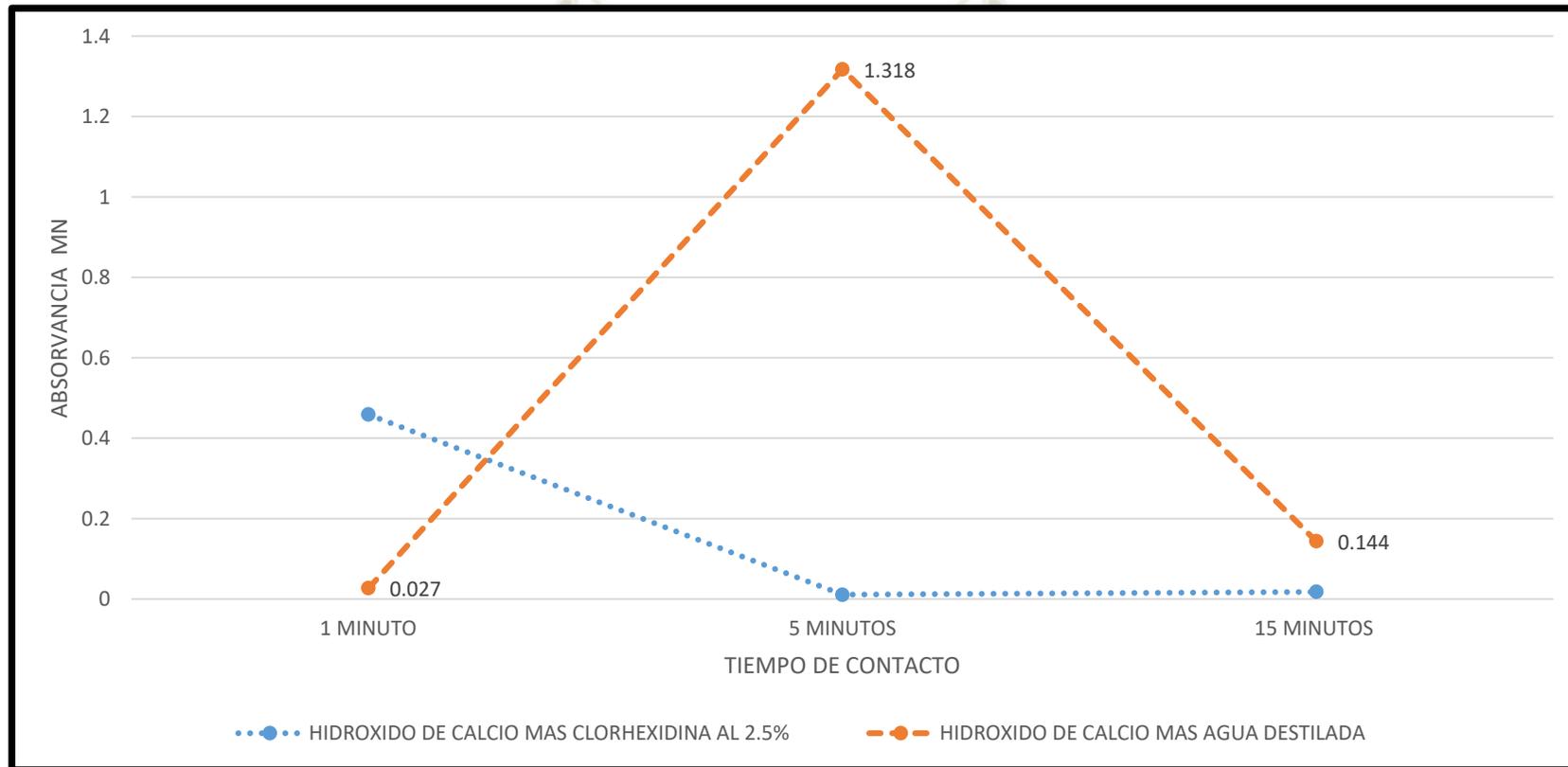


Fuente: Matriz de Registro y Control

Elaboración propia del autor

**GRÁFICO N° 13**

**COMPARACIÓN DE LA ABSORBANCIA (NM) PROMEDIO ENTRE EL HIDROXIDO DE CALCIO MAS CLORHEXIDINA AL 2.5% Y HIDROXIDO DE CALCIO MAS AGUA DESTILADA DESPUÉS DE 1 MINUTO , 5 MINUTOS Y 15 MINUTOS DE CONTACTO CON BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS , AREQUIPA 2017**



Fuente: Matriz De Registro y control  
Elaboración propia del autor

## DISCUSIÓN

Actualmente la endodoncia atraviesa por una etapa de reestructuración y avance técnico –científico ;con el fin de mejorar la calidad de atención hacia los pacientes dejando atrás la endodoncia convencional y pasar a realizar la endodoncia de última generación en la que se está renovando los protocolos de tratamiento de cada una fases ; implementado nuevos tipos de instrumentación rotatoria , utilizando irrigación sistemática y buscando constamente mejorar las propiedades bactericidas de los medicamentos intraconducto para hacerlos más biocompatibles , menos cáusticos ,eficaces , efectivos y que originen menos alteraciones en los tejidos periradiculares para así mejorar la limpieza de los conductos y haciendo que llegue en la totalidad de la pieza dentaria con el único propósito de repotenciar su efecto bactericida y para provocar la eliminación de biofilm de bacterias como el *Enterococcus Faecalis* y otras.

Dicha bacterias son bacterias Gram positivas que está compuesta por una pared celular única ,espesa que mide de 10 a 50 um alcanzado hasta 80 um conformada completamente por un peptidoglicano y ácido lipoteicoico responsable de la manutención de la célula y de la rigidez constituyéndola extremadamente fuerte a la tensión. Tiene la capacidad de agredir a los tejidos alternos a través de exotoxinas dependientes del ácido lipoteicoico que tiene características de adhesión(15).Se encuentran formando frecuentemente un ecosistema organizado, integrado y relacionado entre ellas ,adherido hacia una determinada superficie y está rodeada por una matriz extracelular que está formada por polisacáridos, ácidos nucleicos y proteínas que la protege de las amenazas exógenas(19). Y de esa manera ocasiona las infecciones endodónticas crónicas que son producidas por la activación de una cascada de complemento y activación celular principalmente macrófagos y linfocitos (15). Siendo el principal factor de fracaso de un tratamiento endodóntico. El cual se ha convertido en el principal problema de erradicación.

Según *Berutti y col.* menciona que la dinámica de las infecciones radiculares de los microorganismos anaerobios; está basada en el consumo de oxígeno y la

producción de anhídrido carbónico y junto a la disminución del potencial oxido reducción(26). Favoreciendo al proceso de fermentación en la cual el carbono se vuelve un proveedor de energía y este a su vez se encarga de donar iones de hidrogeno haciendo que se produzca el proceso respiración(26).

Es por esa razón que el trabajo de investigación está enfocado en mejorar las propiedades bactericidas mezclando dos sustancias químicamente incompatibles basándome en uno de los principios farmacológicos de la interacción de la farmacodinamia que es el sinergismo de potenciación con la intención de mejorar sus efectos bactericidas para producir un proceso reparativo en corto tiempo durante el proceso de medicación intraconducto. El sinergismo de potenciación es la unión de dos sustancias de diferentes familias con diferentes características; en este caso la clorhexidina pertenece a las familias de las sales con un pH de 3.5 mientras que el hidróxido de calcio es un ácido que es poco soluble en agua y que tiene un ph de 12.6-12,8.

*Taketoshi y col* determino que al mezclar hidróxido de calcio más clorhexidina al 0.12% presento un potencial bactericida mayor ; También determino que la eficacia bacteriana de las mezcla están dada por la clorhexidina en sí y al unirlo con el hidróxido de calcio que presenta un PH alcalino (12.6) ,este es igualado haciendo que el PH del hidróxido de calcio es decir un pH alcalino que tiene la particularidad de alcalinizar la zona infectada neutralizado la lesión produciendo iones calcio e hidroxilo ; La mezcla es efectiva contra el *E. faecalis* y *P. Auriginosa* ;A concentraciones mínimas no es recomendable porque retarda su efecto y requiere un lapso mayor para la eliminación de microorganismos(9)(23).

Si bien el estudio de *Taketoshi y col* tiene una semejanza con el estudio de investigación que presido en el ámbito de la unidades de estudio, en los resultados investigativos ya que ambos concordamos que al unir el hidróxido de calcio con la clorhexidina estamos provocando un proceso de sinergismo entre ambos materiales a pesar que presente el primero un ph alcalino y el segundo un ph acido haciendo que el ph se regularice como alcalino produciendo la neutralización del ecosistema del biofilm que presenta un microclima acido filo ocasionando la muerte de los microorganismos para producir efectos

bacteriostáticos y bactericidas; ya que el *Enterococcus Faecalis* es una bacteria anaeróbica acidófila que presenta un pH externo (ácido) y un pH interno (neutro) esto es gracias al proceso de fermentación del anhídrido carbónico para formar iones de hidrógeno como parte de su proceso para proveerle de energía a la bacteria. Por esa razón el pH alcalino de hidróxido de calcio + clorhexidina neutraliza la zona externa produciendo efectos bactericidas a altas concentraciones esto se debe a la presencia de la clorhexidina por la capacidad de adherirse a la pared celular de las bacterias y el hidróxido de calcio que tiene la capacidad de oxidar los ácidos grasos y degradar la membrana plasmática.

Recalcando que la clorhexidina se comporta como una sustancia bactericida a altas concentraciones mientras que a bajas concentraciones se comporta como una sustancia bacteriostática provocando el vaciamiento de las sustancias de bajo peso molecular que son el fósforo y potasio alterando el transporte fosforotransferasa del azúcar e inhibiendo la producción de ácido de la bacteria que se encuentra formando un biofilm bacteriano.

Hargous P y Palma AM ; menciona que el hidróxido tiene una baja actividad bactericida estableciendo que es un material bacteriostático que al unirlo a la clorhexidina presenta altas cualidades bactericidas . para detener crecimiento bacteriano(23). Algunos autores mencionan que el hidróxido de calcio es una sustancia más que bactericida es bacteriostática a causa que presenta un pH alcalino que lo cual discrepa con el autor ya que en la investigación que presido salió como resultado al 1 minuto de contacto una absorbancia disminuida con respecto a la mezcla de hidróxido de calcio + clorhexidina y agua destilada lo cual comprueba que tiene efectos bactericidas en el momento en el que contacta con el biofilm bacteriano.

También mencionan que Turk. resalta que el mejor vehículo para unir al hidróxido de calcio era la clorhexidina al 2% (23). Ya que las técnicas farmacológicas como el sinergismo son armas para repotenciar las características de las sustancias es por esa razón que la combinación de hidróxido de calcio más clorhexidina al 2.5% sobre biofilm bacteriano de *Enterococcus Faecalis* en tres tiempos ( 1, 5 y 15 minutos ) se utilizó para observar no solamente el comportamiento de la

bacteria cuando se encuentra en contacto directo con el medicamento en un primer momento; sino también a través del tiempo para evidenciar la propiedades de sustantividad de la clorhexidina. En la cual brindo mejores resultados; mostrando una alta diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) a los 5 minutos de contacto con el biofilm de *Enterococcus Faecalis* formando una curva asimétrica que va de manera creciente desde el primer minuto hasta 5 minutos y de ahí se vuelve constante manteniendo el efecto bactericida a diferencia de lo que ocurrió con el hidróxido de calcio + agua destilada que mostro un resultado con altas y bajas ya que en un primer momento presento un bajo crecimiento bacteriano ,a los 5 minutos un alto crecimiento bacteriano y a los 15 minutos vuelve a tener crecimiento bacteriano bajo . Esto se debe a que el hidróxido de calcio en un primer momento se comporta como una sustancia bactericida para las micro colonias o bacterias planctónicas que se encuentran libres en la superficie del biofilm y al pasar el tiempo es bacteriostático deteniendo el crecimiento bacteriano o interviniendo a nivel de la matriz extracelular para luego alterar las colonias ya formadas .De acuerdo a varios autores mencionan que el biofilm está formado por micro colonias que se forman a partir de las bacterias libres(planctónicas)(19).Que a su vez están organizadas e interrelacionas entre sí.

*Mehmet Burak Guneser y Col* ; realizo un estudio en la cual midió el efecto antimicrobiano del hipoclorito de sodio , clorhexidina al 2% ,clorhexidina más cetricimicina , dihidrocloruro de octenidina y extracto de la planta de salvia officinalis en contra de *Enterococcus Faecalis* . Para lo cual utilizo setenta diente uniradiculares a las cuales fueron aplicadas las soluciones antes mencionadas .Para determinar la cantidad de colonias bacterianas formadas utilizó el UFC. Determinándose que la clorhexidina más la Octodenina no presentaron colonias bacterianas a diferencia de la clorhexidina más la cetricimicina (10).Si bien el estudio no tiene mucha relación con el estudio de investigación que presido pero si tiene una concordancia de vitalidad es que utilizo clorhexidina y la mezclo con otra sustancia para fortalecer sus capacidades bactericidas que presenta. Si bien el estudio lo realizaron en base al conteo de la UFC y yo lo hice en base a la medición de la absorbancia del crecimiento bacteriano que se produce cuando

entra en contacto con el biofilm de *Enterococcus faecalis*. Concuero con el autor que en la actualidad así como la endodoncia está avanzando a grandes pasos también las bacterias patógenas se vuelven más resistentes a los medicamentos gracias a la capacidad de almacenar información a través de su ADN bacteriano que presentan los biofilm para hacerlo más resistente en contra de los medicamentos intraconducto . Por esa razón para tener mejores efectos bactericidas vamos a tener que empezar a mezclar los medicamentos aprovechando sus diferentes cualidades medicamentosas con el objetivo de tener mejores resultados para eliminar el biofilm.

*Agrima Vasudevaa y Col* realizaron un estudio para evaluar la desinfección de los túbulos dentinales utilizando gel de clorhexidina al 2%, miel, gel de aloe vera, cúrcuma longa, gel de propóleos e hidróxido de calcio contra *Enterococcus Faecalis*. Dando como resultado gel de clorhexidina al 2% dio los mejores resultados. Entre los extractos de hierbas Propóleos y Curcuma longa mantienen un futuro prometedor, pero para implementar su uso como único medicamento intracanal(42). Se utilizó unidades de estudio como es la clorhexidina y el hidróxido de calcio si bien los resultados obtenidos nos demuestran que la clorhexidina es más bactericida lo cual concuerdo con el autor y se podría aseverar que la sustancia que le da actividad bactericida al compuesto que estoy probando es la clorhexidina porque además de ser un bactericida como ya se sabe también presenta una propiedad llamada la sustantividad que es la capacidad ser absorbida de manera reversible ;para seguir teniendo efecto por un tiempo prolongado y consecutivo haciendo que el hidróxido de calcio funcione como una sustancia alcalina dispuesto a neutralizar y detener el proceso de crecimiento bacteriano para permitir que la clorhexidina funciones como un material bactericida.

*Coriat Rodríguez R*: Determino que la combinación de Cetrimida al 0.5% + clorhexidina al 2% a los 5 minutos de exposición obtuvo una lectura promedio de absorbancia = 0.2789 , la clorhexidina al 2% obtuvo una lectura promedio de absorbancia de 0.5678 a los 5 minutos de exposición , el hipoclorito de sodio al 5.25% obtuvo una lectura promedio de absorbancia de 1.0856 a los 5 minutos

de exposición , el cloruro de sodio al 0.9% (grupo control) obtuvo una lectura promedio de absorbancia de 1.3067. Además, en la comparación de las 3 soluciones en cada tiempo ensayado se obtuvo diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ )(42). Los resultados obtenidos del autor *Coriat Rodríguez R* tiene un parecido con el trabajo de investigación que presido en cuanto a la técnica utilizada y los resultados obtenidos ya que ambos coincidimos en la formación de biofilm en filtro de celulosa haciendo que el filtro actuó como un medio formador de biofilm homogéneo de bacterias de *Enterococcus Faecalis* por la presencia de poros que son micro retenciones para mejorar la adherencia simulando al tejido dentinario. Se llama homogéneo porque se está utilizando un solo tipo de cepa bacteriana. Los resultados obtenidos concuerdan con los resultados de la investigación que presido ya que a los 5 minutos se observa que existe un aumento de la actividad bactericida.

Después de haber realizado un análisis crítico y sintético de los estudios de investigación antes mencionados se establece que el hidróxido de calcio es el medicamento intraconducto de elección para el tratamiento de lesiones periapicales de largo plazo por la capacidad bactericida en un primer momento sobre las bacterias libres planctónicas y capacidad bacteriostática y antibacteriana al pasar el tiempo por el Ph alcalino (12.6- 12,8) que tiene la capacidad de neutralizar el medio bacteriano ácido fillo que tienen las bacterias anaeróbicas facultativas; que presenta por la disminución del potencial oxido reducción haciendo que el ecosistema formado por las cepas bacterianas presenten un Ph ácido . Para reforzar al hidróxido de calcio se utilizó la clorhexidina que es utilizada en la mayoría de los casos como una sustancia irrigadora por la capacidad bactericida que presenta ya que altera la estructura que envuelve y protege a las bacteria, pero también puede ser utilizada como un material de medicación intraconducto porque presenta la propiedad de sustantividad que tiene la capacidad para tener un efecto a través de un tiempo prolongado . Aprovechando las características de ambos materiales se decidió unirlos con el objetivo de repotenciar su eficacia bactericida y bacteriostática ya que no solo buscamos neutralizar y detener el crecimiento bacteriano sino también altera la estructura bacteriana para provocar su eliminación. En el estudio que realice

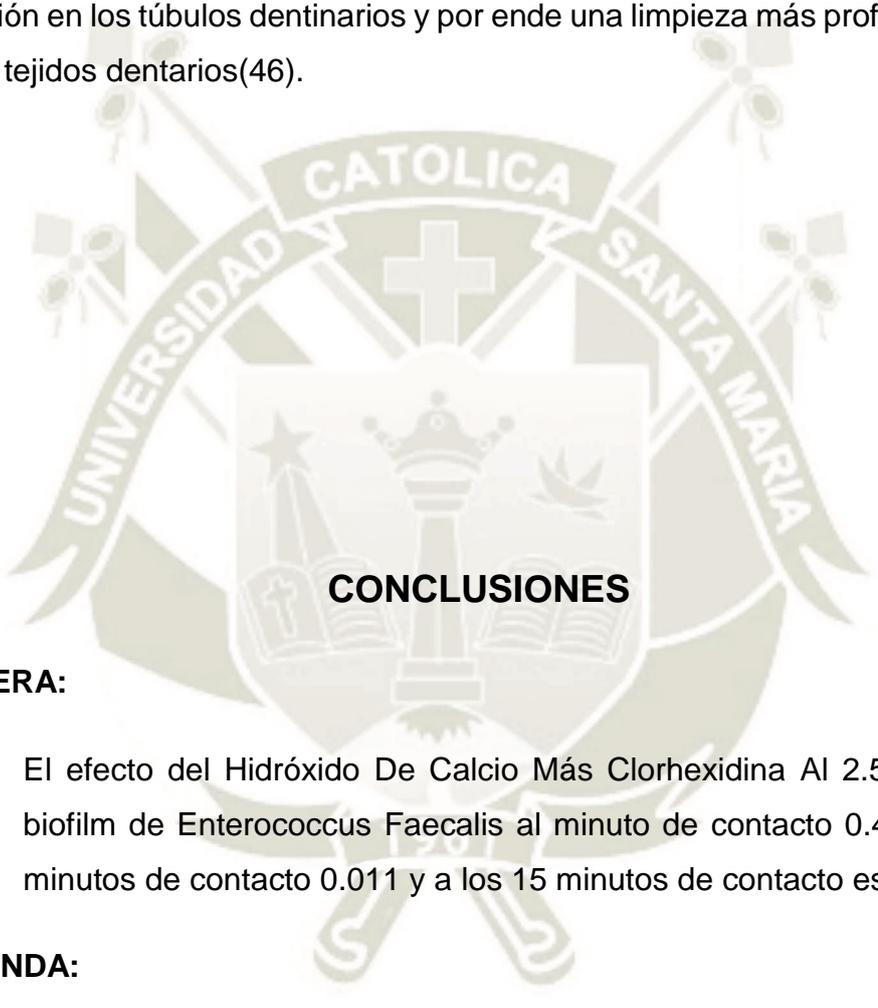
comprobé que al unir los dos materiales presentaron características bactericidas y bacteriostáticas sobre biofilm de *Enterococcus Fecalis* a los cinco minutos y quince minutos. Ya que al minuto de acuerdo con el Ph alcalino del hidróxido de calcio y el Ph ácido de la clorhexidina produce un desequilibrio de adaptación en la sustancia que se forma en un primer momento y esto es corroborado con el estudio de *Ya Shen y cols que mencionan que la clorhexidina al 1 minuto tiene un efecto bactericida inferior.* (44). También Mehta y Pereira observo que el hidróxido de calcio que debe ser asociado con diferentes tipos de sustancias bactericidas con el único propósito de repotenciar su efecto(45).

Tanto el hidróxido de calcio y la clorhexidina son sustancias totalmente distintas ya se han realizado estudios sobre la interacción de ambos y si afectan sus propiedades bactericidas de acuerdo a *Taketoshi Furuya M.y cols* en la cual menciona que el efecto de hidróxido de calcio más clorhexidina depende de la concentración y tiempo de contacto de hidróxido de calcio y que el pH del hidróxido de calcio se conserva alcalino y no es modificado por la presencia de la clorhexidina es más la clorhexidina repotencia y alarga el efecto bactericida (9). Según *Donyavi y col* : mencionan que la aplicación de Hidróxido de Calcio más clorhexidina durante dos semanas redujo significativamente los recuentos de colonias aeróbica, anaeróbica y de *E. faecalis*. Por lo tanto, puede ser beneficioso llevar a cabo el tratamiento del conducto radicular primario de los dientes necróticos con lesiones endodónticas en dos sesiones con medicamentos intracanal para lograr resultados predecibles(42).

Para mi persona el medicamento intraconducto que debe ser utilizado con más frecuencia es el hidróxido de calcio más clorhexidina porque tiene un efecto bactericida superior constante y una actividad bacteriostática cualidad que proviene del hidróxido de calcio y de la clorhexidina cuando se encuentra a bajas concentraciones.

En cuanto a la incompatibilidad ambos son compatibles y el hidróxido de calcio presenta por medio del ion calcio cualidades regeneradoras de tejido a través de la activación de la fosfatasa alcalina, adenosina, pirofosfata y etc. Que se encarga de inducir el proceso ontogenético y dentinogenico activando a las células como

los macrófagos derivados del torrente sanguíneo que pueden transformarse de acuerdo a la necesidad del tejido (osteoblasto, condroblastos o cualquier célula del tejido conjuntivo). Mientras que la clorhexidina a pesar de ser un material incompatible con los tejidos es una macromolécula que tiene dificultad para atravesar a los tejidos dentinarios por esa razón *Priyadarshini B y Cols* están considerando crear clorhexidina cargada en nano partículas que tenga una mejor adhesión en los túbulos dentinarios y por ende una limpieza más profunda a nivel de los tejidos dentarios(46).



## CONCLUSIONES

### PRIMERA:

El efecto del Hidróxido De Calcio Más Clorhexidina Al 2.5% sobre el biofilm de *Enterococcus Faecalis* al minuto de contacto 0.459, a los 5 minutos de contacto 0.011 y a los 15 minutos de contacto es 0.018 .

### SEGUNDA:

El efecto del Hidróxido De Calcio Mas Agua Destilada sobre el biofilm de *Enterococcus Faecalis* al minuto de contacto 0.027, a los 5 minutos de contacto 1.400 y a los 15 minutos de contacto es 0.144.

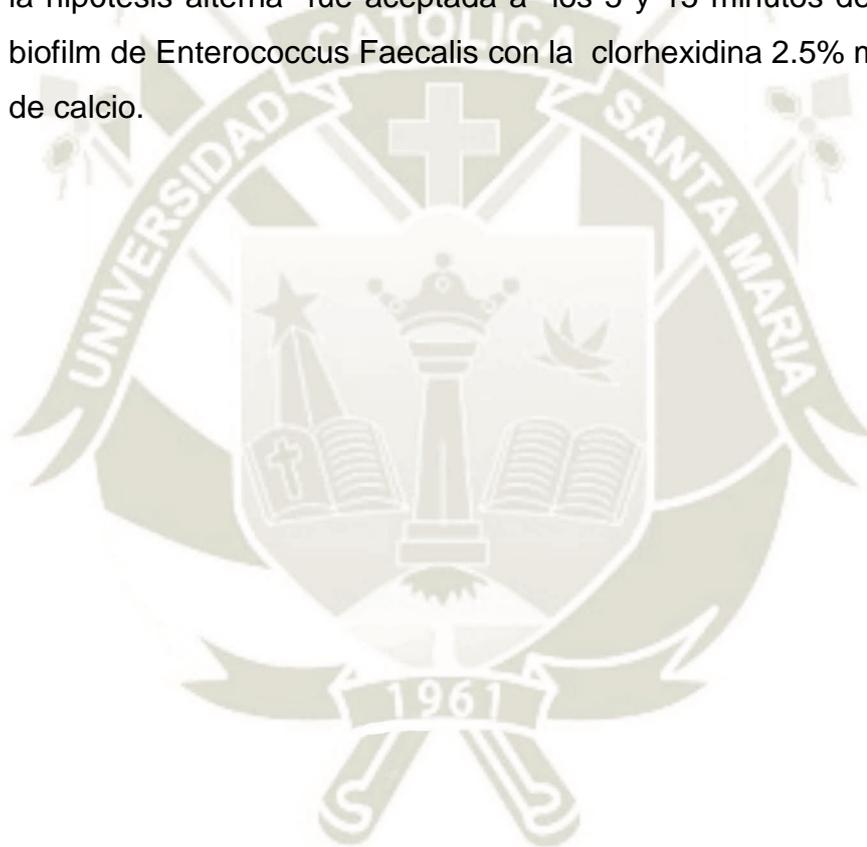
### TERCERA:

Las pruebas estadísticas establecieron una diferencia significativa entre la absorbancia promedio entre el hidróxido de calcio más clorhexidina al

2.5% y el hidróxido de calcio más agua destilada en los diferentes tiempos. Si bien se estableció que la clorhexidina en el 1 minuto de contacto tuvo un efecto bactericida menor que el hidróxido de calcio más agua destilada eso cambio a los 5 minutos y 15 minutos que tuvo un efecto superior .

#### **CUARTO:**

La Hipótesis nula se acepta al minuto de contacto de biofilm de Enterococcus Faecalis con clorhexidina 2.5% más hidróxido de calcio .Y la hipótesis alterna fue aceptada a los 5 y 15 minutos de contacto de biofilm de Enterococcus Faecalis con la clorhexidina 2.5% más hidróxido de calcio.



## RECOMENDACIONES

### PRIMERA:

Se recomienda hacer estudios sobre la viabilidad de la clorhexidina a diferente concentración sobre biofilm heterogéneo en dientes necrótico extraídos realizando pruebas con microscopia electrónica y fluorescencia

### SEGUNDA:

Realizar estudios de investigación combinando hidróxido de calcio con otras sustancias bactericidas como el yodoformo y clorhexidina al 6.25% para mejorar sus propiedades de radiopacidad para aplicarlo sobre biofilm mixto para comprobar la susceptibilidad que presenta realizando pruebas de concentración inhibitoria mínima y máxima y también realizando UFC para ver la eficacia de la pasta medicamentosa.

### TERCERA:

Realizar estudios de investigación para observar el comportamiento, organización bacteriana del Enterococcus Faecalis con otras cepas bacterianas y cepas micóticas como el Candida Albicans así como la determinación del pH del ecosistema en el que se encuentran y someterlo a pruebas de susceptibilidad frente a aceites de plantas vegetales como el Aloe vera o el propóleos

### CUARTO :

Realizar investigaciones sobre la reestructuración molecular de la clorhexidina en la cual sea más pequeña y que tenga mejores efectos bactericidas con mejores capacidades de penetración en la pared celular y membrana plasmática de las bacterias para poder penetrar en el citoplasma bacteriano alterando su estabilidad. Interna.

## BIBLIOGRAFIA

1. ILSON JOSE SOARES FG. Endodoncia Tecnicas y Fundamentos. Segunda Edicion. Editorial Medica Panamericana.Año 2002.
2. ZAMORANO. DFB. Medicacion Intraconducto en Endodoncia. Repositorio de Tesis de la Universidad de Valparaiso. 2013;1–37.
3. EDUARDO LIMA MACHADO . Endodoncia de la Biologia a la Tecnica. Editorial Amolca.Año 2009.
4. MOHAMMADI Z, JAFARZADEH H SHALAVI , SAHEBALAM R KJ. Efectos entre el hidroxido de Calcio y Soluciones de Irrigacion Actuales. Comptemp Dent Pr. 2017;3:246–9.
5. JIMENEZ PINZAN, A, SEGURA EGEEA JJ. Valoración clínica y radiológica del estado periapical: registros e índices periapicales. Endodoncia (Mex). 2003;21(4):220–8.Available from: [http://personal.us.es/segurajj/documentos/CV-Art-Sin\\_JCR/Endodoncia-Valoracion\\_estado\\_periapical-2003.pdf](http://personal.us.es/segurajj/documentos/CV-Art-Sin_JCR/Endodoncia-Valoracion_estado_periapical-2003.pdf).
6. VINUEZA GME; PVVG. Identificacion Molecular y Asociacion Causal de Microorganismos Presentes en Lesiones Refractarias al Tratamiento Endodontico.Repositorio de Tesis Universidad San Francisco de Quito. Año 2014.
7. FORTY YEPEZ JB. Hidroxido de Calcio como Medicacion Intraconducto en Piezas con Pulpas Necroticas. Repositorio de Tesis de la Universidad de Guayaquil. Año 2012. [Internet] Available from: [http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/2737/1/JOHN\\_FORTY\\_TESINA\\_FINAL.pdf](http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/2737/1/JOHN_FORTY_TESINA_FINAL.pdf).
8. MARINA; RGG; ALGJBAHSRMSM. Hidroxido de Calcio : Su Uso Clinico en la Endodoncia Actual. Camaguey -Cuba.Año 2004; [Internet]. Available from: <http://scielo.sld.cu/pdf/amc/v9n3/amc160305.pdf>.
9. TAKETOSHI FURUYA MEGURO , ALBERTO ARRONIZ PANDILLA

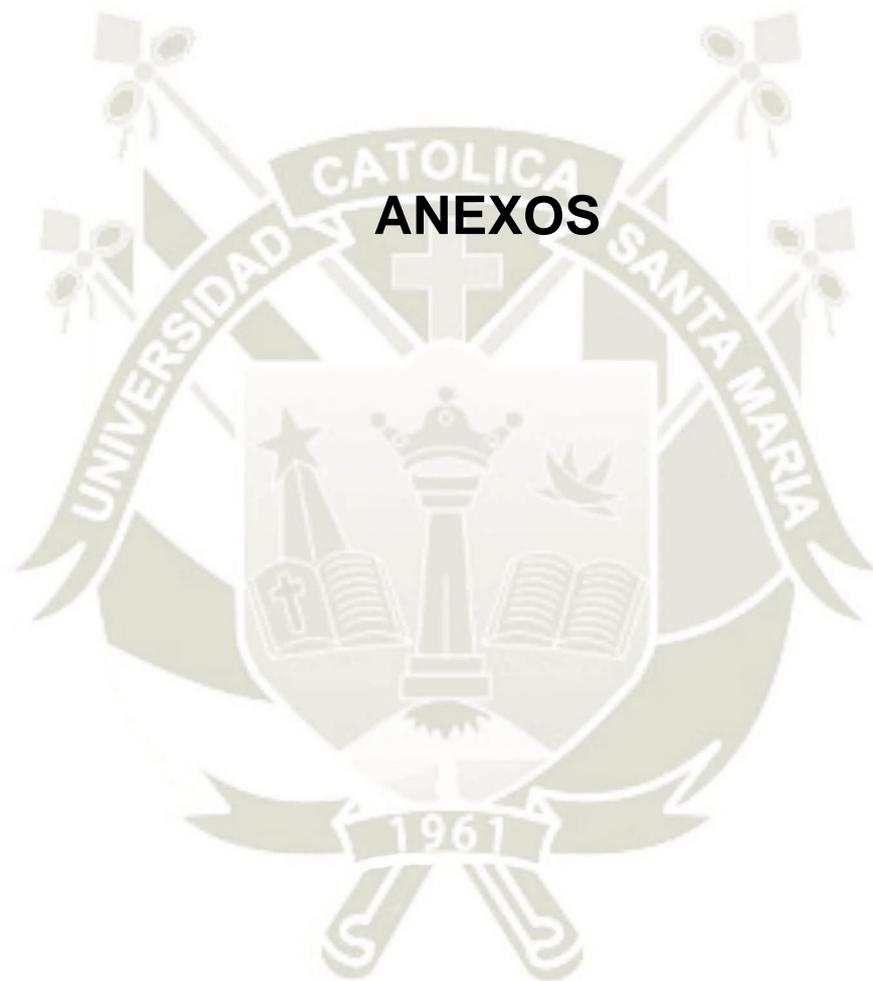
- SALVADOR , VACA PACHECO , SERGIO PANIAGUA CONTRERAS , G .  
LUZ , MONROY PEREZ ERIC , HERNANDEZ GOMEZ L. Evaluacion de  
la Actividad Antibacteriana en una Mezcla de Hidroxido de Calcio y  
Clorhexidina al 0.12% como Irrigante Pulpar. oral Rev. 2007;23:355–9.
10. MEHMET BURAK GUNESER MBA Y AUE. Efecto de la Combinacion de  
la Clorhexidina y Cetricimicina , Extracto de la Planta de Savila Officinalis y  
Octetnidina en Comparacion con Irrigantes Endodonticos Convencionales.  
2016;35:736–741 Dent Mater J [Internet].. Available from:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=%22Antibacterial+Effect+of+the+Combination+of+Chlorhexidine+and+Cetrimide%2C+Extract+of+the+Plant+of+Savila+Officinalis+and+Octenidin+in+Comparison+with+Conventional+Endodontic+Irrigants>.
  11. SEGUNDO YH. Importancia de Uso del Hidroxido de Calcio Quimicamente  
Puro Como Medicacion Intraconducto en Dientes con Rizogenesis  
Incompleta. Repositorio de Tesis de la Universida de Guayaquil. Año 2008  
[Internet]. Available from:  
<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/21970/1/YEPEZsegundo.pdf>.
  12. CARVALHO CN, FREIRE LG, DE CARVALHO APL, DUARTE MAH,  
BAUER J, GAVINI G. Ions release and pH of calcium hydroxide–,  
chlorhexidine– and bioactive glass–based endodontic medicaments. Braz  
Dent J. 2016;27(3):325–31.
  13. DRA. GENNÉ RODRÍGUEZ GUTIÉRREZ; DRA. MARINA ÁLVAREZ  
LLANES; DR. JOEL GARCÍA BOSS; DRA. SURY R. ARIAS HERRERA;  
MAHELI MÁS SARABIA. El hidróxido de calcio: su uso clínico en la  
endodoncia actual. Rev Med Camaguey. 2005;9:1–10 [Internet].. Available  
from: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-02552005000300016](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552005000300016).
  14. SHARMA G, AHMED HMA, ZILM PS, ROSSI-FEDELE G. Antimicrobial  
properties of calcium hydroxide dressing when used for long-term  
application: A systematic review. Aust Endod J. 2018;44(1):60–5.

15. CARLOS E. Ciencia Endodontica. 1ra Edicion. Editorial Medicas EA, Año 2005.
16. BARZUNA U, MORALES MARIA DE JESUS EL. Manejo de conductos necroticos con clorhexidina al 2% [Internet]. Available from: <https://docplayer.es/43067727-Manejo-de-conductos-necroticos-con-clorhexidina-al-2-dr-mayid-barzuna-u-dra-maria-jesus-morales-dr-esteban-leon.html>.
17. BOBBIO S. Soluciones Irrigantes en Endodoncia. Repositorio de Tesis de la Universidad Peruana Cayetano Heredia [Internet]. 2009;33. Available from: <http://www.cop.org.pe/bib/investigacionbibliografica/SANDRAVANESSABOBBIOABAD.pdf>
18. YANAC CYE. Actividad Antimicrobiana del Hidroxido de Calcio Asociado a Distintos Vehiculos como Medicacion Intraconducto Frente a Bacterias Aisladas de Dientes con Periodontitis Apical Sintomatica. Repositorio de Tesis de la Universidad Nacional de San Marcos ; Año 2017 [Internet]. Available from: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/6183/Champa\\_yy.pdf?sequence=1](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/6183/Champa_yy.pdf?sequence=1).
19. STEPHEN KMH; C. Cohen Vias de la Pulpa. Decima Edicion. Editorial Mosby .Año 2011.
20. MARIO ROBERTO LEONARDO R DE TOLEDO LEONARDO. Endodoncia , Conceptos Basicos Y Recursos Tecnologicos. Editorial Panamericana AM, Año 2009.
21. MOENNE I. Dinamica de los Irrigantes. Repositorio de Tesis Universidad de Valparaíso. 2013;Trabajo De:1–29.
22. COVO MORALES , EDUARDO ENRIQUE ; GUTIERREZ ZABALETA , GINNA PAOLA ; PALACIOS MERCADO L. Prevalencia de Enterococcus Faecalis en Conductos Radiculares de Pacientes con Patologia Pulpar y Periapical. Repositorio de Tesis Universidad Cartagena . Año 2014

- [Internet]. Available from:  
[http://repositorio.unicartagena.edu.co:8080/jspui/bitstream/11227/1747/1/Informe final.pdf](http://repositorio.unicartagena.edu.co:8080/jspui/bitstream/11227/1747/1/Informe%20final.pdf).
23. HARGOUS P A. A. ,Medicacion Intra canal: Hidroxido de Calcio y Clorhexidina al 2% en gel. Editorial Anaceo. 2015;1:52–8.
  24. COSTERTON JW, STEWART PS GE. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* (80- ). 1999;284.
  25. COSTERTON JW, LEWANDOWSKI Z, CALDWELL DE, KORBER DR L-, HM. S. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol*. 1995;49.
  26. COL B. EYM– G Y. Manual de Endodoncia. 1ra Edición. Editorial Amolca. Año 2016.
  27. SIQUEIRA JF JR R. IN. Community as the unit of pathogenicity: an emerging concept as to the microbial pathogenesis of apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;107.
  28. CHAVEZ DE PAZ LE, BERGENHOLTZ G, DAHLEN G SG. Response to alkaline stress by root canal bacteria in biofilms. *Endod J*. 2007;40.
  29. DISTEL JW, HATTON JF GM. Biofilm formation in medicated root canals . *J Endod*. 2002;28.
  30. NAIR PN, HENRY S, CANO V VJ. Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after ". one-visit" *Endod Treat Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2005;99.
  31. SIRVENT ENCINAS F, GARCÍA BARBERO E. Revisión bibliográfica Biofilm. Un nuevo concepto de infección en Endodoncia. *Endo do ncia* [Internet]. 2010;28(4):241–56. Available from:  
<http://www.medlinedental.com/pdf-doc/ENDO/vol28n45.pdf>
  32. SIQUEIRA JF JR RI. Community as the unit of pathogenicity: an emerging concept as to the microbial pathogenesis of apical periodontitis. *Oral Surg*

- Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2009;107.
33. KHEMALEELAKUL S, BAUMGARTNER JC PS. Autoaggregation and coaggregation of bacteria associated with acute endodontic infections. *J Endod.* 2006;32.
  34. SOCRANSKY SS HA. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol.* 2002;28.
  35. RICUCCI D, MARTORANO M, BATE AL PE. Calculus-like deposit on the apical external root surface of teeth with post-treatment apical periodontitis: report of two cases. *In. t Endod J.* 2005;38.
  36. DIAZ AC. Aspectos Relevantes de *Enterococcus Faecalis* y su Participación en las Infecciones de Origen Endodóntico. Carlos Boveda. Año 2002 [Internet]. Available from: [http://www.carlosboveda.com/Odontologosfolder/odontoinvitadoold/odontoinvitado\\_55.htm](http://www.carlosboveda.com/Odontologosfolder/odontoinvitadoold/odontoinvitado_55.htm)
  37. SIQUEIRA, JF; JR; SEN B. Fungi in endodontic infections. *En. Oral surgery, oral Med oral Pathol oral Radiol Endod.* 97.
  38. RAN, S; HE, Z; LIANG J. Survival of *Enterococcus faecalis* during alkaline stress: Changes in morphology, ultrastructure, physiochemical properties of the cell wall and specific gene transcripts. *En Arch Oral Biol.* 2013;58, N.
  39. DEL CARPIO-PEROCHENA, AE; BRAMANTE, CM; DUARTE MC, BC; VILLAS-BOAS, MH; GRAEFF, MS et al. Biofilm dissolution and cleaning ability of different irrigant solutions on intraorally infected dentin. *J Endod.* 2011;37, N.
  40. WECKWERTH, PH; ZAPATA, RO; VIVAN, RR; TANOMARU, M; MALIZA, AG; DUARTE M. In Vitro Alkaline pH Resistance of *Enterococcus faecalis*. *Brazilian Dent journal.* 2013;24, N.
  41. JIANG K, JONES P, SHEKAR R. Severe soft tissue abscess caused by *Candida krusei*. *Infect Dis Clin Pract.* 2006;14(3):166–7.

42. AGRIMA VASUDEVA, N , DAKSHITA JOY SINHAA , SHASHI PRABHA TYAGIA , NARENDRA NATH SINGHB , PARIDHI GARGC DU. Desinfección de Túbulos Dentinarios con Medicamentos Intraconducto de Gel de Clorhexidina al 2% , Hidróxido de Calcio y Hierbas contra Enterococcus Faecalis, Estudio in Vitro ; Singapore Dent J. 2017;38.
43. RODRIGO CORIAT R. Efecto Comparativo de la Asociación de Cetrimida al 0.5% + Clorhexidina Al 2% , Hipoclorito de Sodio Al 5.25% y Clorhexidina Al 2% sobre Biofilm de Enterococcus Faecalis Generado en Membrana de Nitrato de Celulosa ,Laboratorio De Microbiología De UCSM , Repositorio de Tesis de la Universidad Católica Santa María. 2015;
44. SHEN Y, ZHAO J, DE LA FUENTE-NÚÑEZ C, WANG Z, HANCOCK REW, ROBERTS CR, ET AL. Experimental and Theoretical Investigation of Multispecies Oral Biofilm Resistance to Chlorhexidine Treatment. Sci Rep [Internet]. 2016;6(May):1–13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/srep27537>
45. MEHTA , VERMA , TIKKU , CHANDRA , BAINS B. Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of triple antibiotic paste, calcium hydroxide, and a proton pump inhibitor against resistant root canal pathogens. Eur J Dent. 2017;11.
46. PRIDARSHINI BM, SELVAN ST, LU TB, XIE H, NEO J FA. Enfoque de Administración de fármacos con cápsula de clorhexidina en interfaz de resina -dentina. J Dent Res. 2016;



**ANEXO N° 1**  
**MATRIZ DE REGISTRO DE DATOS**

- **Título de Tesis :**
- **Nombre de Tesista:**

<b>MATERIAL</b>	GE1 <input type="checkbox"/> GE2 <input type="checkbox"/> GE3 <input type="checkbox"/>								
<b>TIPO DE MEDICION</b>	<b>MEDICION DE ABSORVANCIA DE BIOFILM</b>								
<b>TIEMPO</b>	<b>1 MINUTO</b>			<b>5 MINUTOS</b>			<b>15 MINUTOS</b>		
<b>N° DE MUESTRA</b>	<b>516nm</b>	<b>555nm</b>	<b>536nm</b>	<b>516nm</b>	<b>555nm</b>	<b>536nm</b>	<b>516nm</b>	<b>555nm</b>	<b>536nm</b>
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
11									
12									
13									

**ANEXO N° 2**  
**DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO DE MUESTRA**

Se determinará mediante fórmula:

$$n = \frac{Z_{\alpha} \sqrt{2P(1-P)} + Z_{\beta} \sqrt{P_1(1-P_1) + P_2(1-P_2)}}{(P_1 - P_2)^2}$$

Criterios estadísticos:

- $Z_{\alpha}$  : 1.96
- $Z_{\beta}$  : 0.842
- $P_1$  : 0.95
- $P_2$  : 0.60
- $P$  :  $P_1 + P_2 = 0.77$

$$n = \frac{\left[ 6\sqrt{2(0.77)(1-0.77)} + 0.842\sqrt{0.95(1-0.95) + 0.60(1-0.60)} \right]}{(0.35)^2}$$

**n = 13**

**ANEXO N° 3**  
**TRATAMIENTO ESTADÍSTICO**

- El presente trabajo de investigativo es de tipo cuantitativo y continuo para la cual se utilizó las siguientes formulas

**I. Medidas de tendencia central : Media**

$$\bar{X} = \frac{X_1 + \dots + X_n}{n}$$

**II. Medidas de Dispersión : Varianza**

$$S^2 = \frac{\sum(X_i - \bar{X})^2}{N - 1}$$

**III. Medidas de Dispersión : Desviación Típica o desviación estándar**

$$S = \sqrt{\frac{\sum(X_i - \bar{X})^2}{N - 1}}$$

**IV. Distribución de T Student :**

$$T = \frac{\bar{X} - \bar{Y}}{\sqrt{\frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{N_1 + N_2 - 2}} \sqrt{\frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2}}}$$

$$g.l = n_1 + n_2 - 2$$

## V. Análisis De Varianza

FUENTE DE VARIACION	g.l	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DEL CUADRADO	PROPORCION
ENTRE GRUPOS DE TRATAMIENTO	k-1	$SS_A = \sum n_j x_j^2 - \frac{\sum n_j x_j^2}{N}$	$MS_A = \frac{SS_A}{K-1}$	$f = \frac{MS_A}{MS_E}$
INTRA GRUPO ERROR	N-k	$SS_E = SS_T - SS_A$	$MS_E = \frac{SS_E}{N-1}$	
TOTAL	N-1	$SS_T = \sum x_j^2 - \frac{(\sum x_j)^2}{N}$		
<b>Se rechaza <math>H_0</math> al nivel de significancia <math>\alpha</math> cuando <math>f &gt; f_{\alpha[(k-1), (n-k)]}</math></b>				

## VI. Prueba de Tuckey:

La prueba de tuckey es una prueba estadística que sirve para probar todas las diferencias entre las medias de los tratamientos de una experiencia

$$\sqrt{\frac{MS_E}{N}}$$

## ANEXO N° 4

### MATRIZ DE REGISTRO Y CONTROL DE DATOS

- **NOMBRE DE LA TESIS** :: “EFECTO IN VITRO DEL HIDROXIDO DE CALCIO CON CLORHEXIDINA AL 2.5% Y HIDROXIDO DE CALCIO CON AGUA DESTILADA SOBRE LA ABSORBANCIA DE BIOFILM DE ENTEROCOCUS FAECALIS EN LA LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA , UCSM, 2017
- **NOMBRE DE TESISTA:** CD Ana Maritza Juárez Suero

N° DE MUESTRA	ABSORVANCIA MEDIDA NM																										
	TIEMPO																										
	1 MINUTO									5 MINUTOS									15 MINUTOS								
	HCA + CHX AL 2.5%			HCA+ H2O			Agua (control)			HCA + CHX AL 2.5%			HCA+ H2O			Agua (control)			HCA + CHX AL 2.5%			HCA+ H2O			Agua (control)		
	ABSORVANCIA MEDIDA	ABS. P		ABSORVANCIA MEDIDA	ABS. P		ABSORVANCIA MEDIDA	ABS. P		ABSORVANCIA MEDIDA	ABS. P		ABSORVANCIA MEDIDA	ABS. P		ABSORVANCIA MEDIDA	ABS. P		ABSORVANCIA MEDIDA	ABS. P		ABSORVANCIA MEDIDA	ABS. P		ABSORVANCIA MEDIDA	ABS. P	
516 nm	555 nm	536 nm	516 nm	555nm	536 nm	516 nm	555 nm	536 nm	516 nm	555 nm	536 nm	516 nm	555 nm	536 nm	516 nm	555 nm	536 nm	516 nm	555 nm	536 nm	516 nm	555 nm	536 nm	516 nm	555 nm	536 nm	
1	0.684	0.597	0.641	0.034	0.031	0.033	0.742	0.254	0.498	0.007	0.003	0.005	0.911	0.910	0.911	1.66	1.685	1.673	0.034	0.031	0.033	0.069	0.065	0.067	1.17	1.169	1.170
2	0.727	0.633	0.680	0.029	0.026	0.028	0.576	0.499	0.538	0.007	0.006	0.007	1.035	1.090	1.063	1.144	1.044	1.094	0.041	0.037	0.039	0.566	0.509	0.538	1.626	1.615	1.621
3	0.71	0.619	0.665	0.005	0.003	0.004	0.456	0.567	0.512	0.014	0.011	0.013	1.342	1.345	1.344	1.329	1.178	1.254	0.018	0.016	0.017	0.077	0.075	0.076	1.616	1.612	1.614
4	0.571	0.498	0.535	0.038	0.034	0.036	0.689	0.598	0.644	0.009	0.007	0.008	1.386	1.376	1.381	1.159	1.014	1.087	0.015	0.014	0.015	0	0	0.000	1.05	1.056	1.053
5	0.775	0.616	0.696	0.063	0.061	0.062	0.64	0.554	0.597	0.009	0.008	0.009	1.308	1.389	1.349	1.412	1.245	1.329	0.017	0.016	0.017	0.017	0.015	0.016	1.085	1.087	1.086
6	0.703	0.613	0.658	0.034	0.03	0.032	0.801	0.75	0.776	0.006	0.002	0.004	1.227	1.311	1.269	1.187	1.043	1.115	0.021	0.018	0.020	0	0	0.000	1.325	1.345	1.335
7	0.253	0.25	0.252	0.019	0.015	0.017	0.971	0.254	0.613	0.012	0.01	0.011	1.225	1.256	1.241	2.052	1.987	2.020	0.022	0.033	0.028	0.052	0.078	0.065	1.67	1.678	1.674
8	0.258	0.251	0.255	0.018	0.019	0.019	0.77	0.196	0.483	0.008	0.008	0.008	1.3	1.345	1.323	1.432	1.385	1.409	0.017	0.021	0.019	0.255	0.22	0.238	1.675	1.654	1.665
9	0.254	0.256	0.255	0.004	0.006	0.005	0.432	0.397	0.415	0.009	0.006	0.008	1.352	1.367	1.360	1.62	0.748	1.184	0.007	0.006	0.007	0.665	0.706	0.686	1.667	1.657	1.662
10	0.199	0.21	0.205	0.018	0.026	0.022	0.911	0.257	0.584	0.012	0.011	0.012	1.332	1.345	1.339	1.452	1.432	1.442	0.005	0.004	0.005	0.081	0.084	0.083	1.345	1.332	1.339
11	0.288	0.29	0.289	0.049	0.046	0.048	0.843	0.215	0.529	0.01	0.012	0.011	1.556	1.559	1.558	1.656	1.565	1.611	0.004	0.008	0.006	0.025	0.035	0.030	1.347	1.456	1.402
12	0.249	0.255	0.252	0.019	0.015	0.017	1.131	0.297	0.714	0.042	0.042	0.042	1.454	1.567	1.511	1.48	1.478	1.479	0.009	0.008	0.009	0.006	0.011	0.009	1.089	1.115	1.102
13	0.641	0.535	0.588	0.033	0.036	0.034	0.498	0.644	0.571	0.003	0.005	0.004	1.453	1.534	1.494	1.672	1.328	1.500	0.032	0.019	0.026	0.067	0.065	0.066	1.766	1.877	1.822
P	0.459		0.027			0.575			0.011			1.318			1.400			0.018			0.144			1.426			
V	0.042		0.0002619			0.009			0.000			0.031			0.072			0.000			0.048			0.070			
DS	0.205		0.016184285			0.097428294			0.009803518			0.176227081			0.268761744			0.010664463			0.218456561			0.265472891			
CV	2%		0.13%			0.80%			0.08%			1.50%			2.24%			0.08%			1.80%			2.20%			

## ANEXO N° 5

### CONSTANCIA DE REALIZACION DE TRABAJO DE LABORATORIO

#### CONSTANCIA DE REALIZACION DE TRABAJO EN LABORATORIO.

El bachiller en Ingeniería Biotecnológica, Fabrizio Johnson Corrales, deja constancia que: La cirujano dentista: **Ana Maritza Juarez Suero**, identificada con DNI **70412456**, estudiante de la segunda especialidad en Endodoncia y Careologia de la Universidad Católica de Santa María, ha efectuado su trabajo practico en el laboratorio correspondiente a su tesis titulada: *"Efecto del hidróxido de calcio con y sin clorhexidina sobre la absorbancia de biofilm de Enterococcus Faecalis in vitro, UCSM, 2017"* en forma continua e ininterrumpida, donde desarrollo adecuadamente las técnicas propuestas en su plan de tesis y logro la formación de *biofilms* de la cepa: ATCC 29912, obteniendo resultados satisfactorios.

Se expide la presente constancia a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

*Lunes, 02 de abril del 2018.*



---

**Fabrizio Johnson Corrales.**

*Bachiller en Ingeniería Biotecnológica.*

**ANEXO N°6**  
**CONSTANCIA DE HABER REALIZADO EL PROYECTO DE TESIS EN EL  
LABORATORIO**



*Universidad Católica de Santa María*

☎ (51 54) 382038 Fax:(51 54) 251213 ✉ [ucsm@ucsm.edu.pe](mailto:ucsm@ucsm.edu.pe) 🌐 <http://www.ucsm.edu.pe> Apartado:1350

AREQUIPA - PERÚ

**CONSTANCIA ESPECIAL N°008-Coord.Lab-2018**

LA QUE SUSCRIBE COORDINADORA DE LABORATORIOS DE LA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA, DEJA CONSTANCIA QUE LA SEÑORITA:

**JUAREZ SUERO ANA MARITZA**

INSTITUCIÓN: UNIVERSIDAD CATÓLICA SANTA MARÍA - AREQUIPA.

HA DESARROLLADO EL PROYECTO DE TESIS, INTITULADO:

“EFECTO DEL HIDROXIDO DEL CALCIO CON Y SIN CLORHEXIDINA SOBRE LA ABSORVANCIA DE BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS IN VITRO UCSM”

PERIODO : del 19 de setiembre 2017 al 19 de octubre del 2017.

SE EXPIDE LA PRESENTE CONSTANCIA A SOLICITUD EXPRESA, Y PARA LOS FINES QUE CONVenga.

Arequipa, 2018,09.18.

  
DR. JESÚS MARÍA ZAMBRANO SALAS DE CALLE  
COORDINADORA DE LABORATORIOS  
Y GABINETES  
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

JM25/Cl.yG  
rtr

## ANEXO N° 7

### SECUENCIA FOTOGRÁFICA

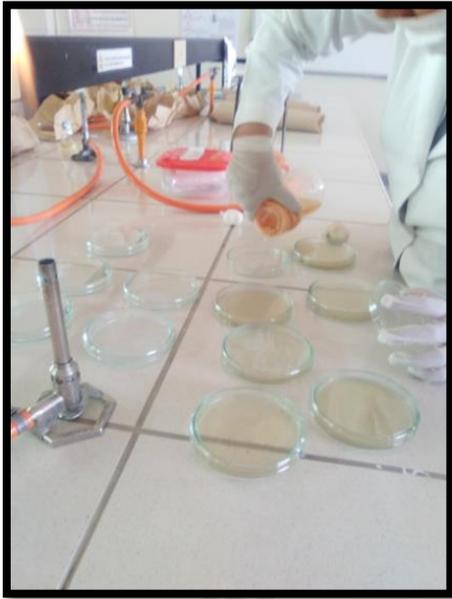
#### ACTIVACION DE LA CEPA CERTIFICADA DE ENTEROCOCCUS FAEALIS



Presentación de la cepa  
bacteriana ATC 29912

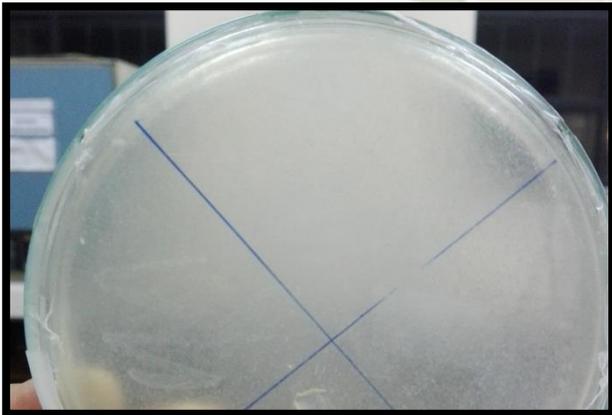


Activación De La Cepa  
Bacteriana Certificada De  
*Enterococcus Faecalis* En  
Caldo BHI



Colocación de Agar KF en las  
placa Petri para luego producir el  
sembrado de la cepa bacteriana

**REPLICACION DE LA CEPA DE ENTEROCOCCUS FAECALIS DESPUES DE 48  
HORAS DE INCUBACION A LA CAMARA DE ANAEROBIOISIS**

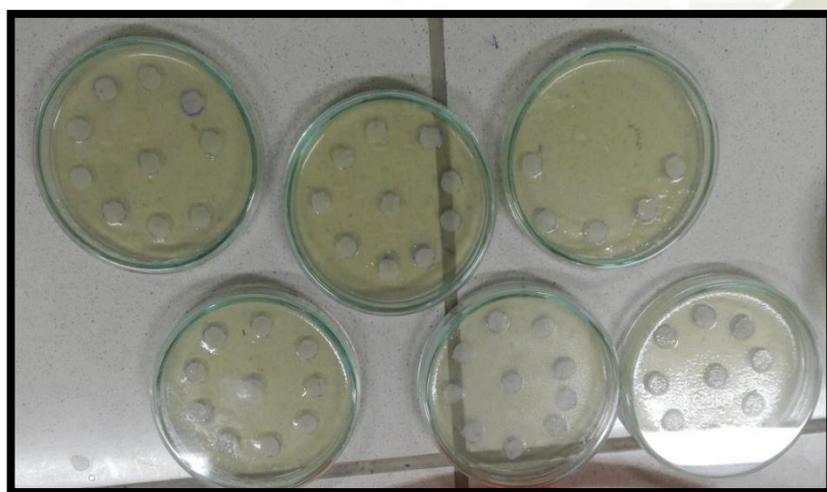


Placa petri con la colonias en  
proceso de crecimiento

## COMPARACION CON LA ESCALA DE MC FARLAND AL 0.5



**OBTENCION DE BIOFILM**



Formación del Biofilm sobre los  
filtros de celulosa en las placas  
Petri

## PRESENTACION Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Colocación de los materiales  
de la investigación



Presentación de las muestras

## MEDICION CON EL ESPECFOTOMETRO



Espectrofotometro para medir la  
absorbancia en nm

Celdillas de medición para  
colocar la sustancia y medir la  
absorbancia

