



---

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**

**INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA SOBRE LA  
ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL HIPOCLORITO  
DE SODIO AL 3% FRENTE A *ENTEROCOCCUS  
FAECALIS* ATCC 29212**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE CIRUJANO  
DENTISTA**

**AUTORA:**

**TIRADO TAFUR ELSA MIRELLA FLORINDA**

ORCID: 0000-0003-0883-6913

**ASESOR:**

**VÁSQUEZ PLASENCIA CÉSAR ABRAHAM**

ORCID: 0000-0001-9426-7002

**TRUJILLO\_PERÚ**

**2019**

# 1. TÍTULO

INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA SOBRE LA  
ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL HIPOCLORITO DE  
SODIO AL 3% FRENTE A *ENTEROCOCCUS FAECALIS* ATCC  
29212

## **2. EQUIPO DE TRABAJO**

### **AUTOR:**

Tirado Tafur Elsa Mirella Florinda

ORCID: 0000-0003-0883-6913

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Estudiante de Pregrado, Trujillo, Perú.

### **ASESOR:**

Mgtr. Vásquez Plasencia César Abraham

ORCID: 0000-0001-9426-7002

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de la Salud,  
Escuela Profesional De Odontología, Trujillo, Perú.

### **JURADO:**

#### **Presidente**

Pairazamán García Juan Luis

ORCID: 0000-0001-8922-8009

#### **Miembro**

Morón Cabrera Edwar Richard

ORCID: 0000-0002-4666-8810

#### **Miembro**

Velásquez Veneros Cynthia karina

ORCID: 0000-0001-5756-7137

### **3. FIRMA DEL JURADO Y ASESOR**

---

Mgtr. PAIRAZAMÁN GARCÍA JUAN LUIS

**PRESIDENTE**

---

Mgtr. MORÓN CABRERA EDWAR RICHARD

**MIEMBRO**

---

Mgtr. VELÁSQUEZ VENEROS CYNTHIA KARINA

**MIEMBRO**

---

Mgtr. VÁSQUEZ PLASENCIA CÉSAR ABRAHAM

**ASESOR**

#### **4. AGRADECIMIENTO**

*Agradezco a Dios, por su amor incondicional para mí y mi familia, por iluminar mi camino para seguir adelante.*

*A mis padres, por su apoyo y amor incondicional a lo largo de mi vida. Por su confianza depositada en mí y por no dejarme nunca sola, gracias a ellos sigo avanzando.*

*A mis abuelos, por sus consejos y por estar siempre alentándome a seguir y no desmayar en el camino.*

*A la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, por recibirme en su centro de estudios.*

## 5. DEDICATORIA

*A Dios por guiarme en todo este largo camino, por brindarme amor, paciencia y fortaleza permitiéndome llegar hasta este momento tan importante en mi formación profesional.*

*A mis padres Nory y Luis, por ser mi motor y motivo más importante de mi vida, quienes con su amor y apoyo me han permitido llegar a cumplir este sueño.*

*A mi mamá Elvira, quien es luz que alumbra mi camino, te amo.*

*A mis hermanos, por su apoyo y cariño en los momentos más importantes de mi vida.*

*Finalmente quiero dedicar esta tesis a mi amiga Flor Zavaleta, por su apoyo en los momentos más difíciles, agradezco a Dios por haberte conocido.*

## 6. RESUMEN

El objetivo de la investigación fue determinar la influencia de la temperatura sobre la actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio al 3% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. El diseño de la investigación fue transversal, experimental, prospectivo y analítico. La muestra estuvo conformada por 40 placas Petri, distribuidos equitativamente en cada sistema de ensayo, los tres sistemas fueron sometidos a pruebas de susceptibilidad con el irrigante a 37 °C; 40 °C y 45 °C, luego fueron diluidas, para realizar las microdiluciones seriadas, y favorecer el conteo de colonias, se cultivaron y se realizó el recuento de UFC a las 24 horas después de su incubación a 37 °C, luego se multiplicó por la inversa de la dilución, y se expresó en UFC/ml. El grupo control no fue sometido a ninguna prueba. De la estadística descriptiva e inferencial se utilizó para datos no normales U de Mann-Whitney y KRUSKAL WALLIS. Los resultados en relación al conteo de UFC, mostraron los valores de  $2.38 \times 10^7$  a 37 °C,  $1.31 \times 10^5$  a 40 °C y  $9.23 \times 10^2$  a 45 °C. Se encontró diferencia entre los grupos de estudio y el grupo control, pero no entre los grupos del hipoclorito de sodio al 3% a 45 °C, 40 °C y 37 °C. Se concluye que la temperatura no influye sobre el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 3% frente a la cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

**Palabras clave:** Antibacterianos, *Enterococcus faecalis*, hipoclorito de sodio, temperatura

## 7. ABSTRACT

The objective of the investigation was to determine the influence of temperature on the antibacterial activity of 3% sodium hypochlorite against strains of *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. The research design was transversal, experimental, prospective and analytical. The sample consisted of 40 Petri dishes, distributed evenly in each test system, the three systems were sometimes susceptibility tests with the irrigator at 37 ° C; 40 ° C and 45 ° C, were then diluted, to perform serious microdilutions, favor colony count, cultivate and CFU count was performed 24 hours after incubation at 37 ° C, then multiplied by inverse of the dilution, and was expressed in CFU / ml. The group does not control any fuel to any test. Descriptive and inferential statistics are specified for non-normal U Mann-Whitney and KRUSKAL WALLIS data. The results in relation to the CFU content, the results of values of  $2.38 \times 10^7$  at 37 ° C,  $1.31 \times 10^5$  at 40 ° C and  $9.23 \times 10^2$  at 45 ° C. Difference was found between the study groups and the control group , but not between the 3% sodium hypochlorite groups at 45 ° C, 40 ° C and 37 ° C. It is concluded that the temperature does not influence the antibacterial effect of 3% sodium hypochlorite against *Enterococcus* strains *faecalis* ATCC 29212.

**Keywords:** *anti-bacterial agents, Enterococcus faecalis, sodium hypochlorite, temperature.*

## 8. - CONTENIDO

1. Título de la tesis.....	ii
2. Equipo de Trabajo.....	iii
3. Hoja de firma del jurado y asesor.....	iv
4. Hoja de agradecimiento y/o dedicatoria.....	v
5. resumen y abstract.....	vii
6. Contenido.....	ix
7. Índice de gráficos, tablas y cuadros.....	x
I.    Introducción.....	1
II.   Revisión de literatura.....	4
III.  Hipótesis.....	23
IV.  Metodología.....	24
4.1 Diseño de la investigación.....	24
4.2 Población y muestra.....	25
4.3 Definición y operacionalización de variables.....	27
4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	28
4.5 Plan de análisis.....	31
4.6 Matriz de consistencia.....	32
4.7 Principios éticos.....	33
V.   Resultados.....	34
5.1 Resultados.....	34
5.2 Análisis de los resultados.....	39
VI.  Conclusiones.....	41
Aspectos complementarios.....	42
Referencias bibliográficas.....	43
Anexos.....	50

## 9. Índice de tablas

<b>Tabla 1</b> <i>Influencia de la temperatura sobre la actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio al 3% frente al Enterococcus Faecalis ATCC 29212</i> .....	34
<b>Tabla 2</b> <i>Test de Duncan, para la evaluación de la Influencia de la temperatura sobre la actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio al 3% frente al Enterococcus Faecalis ATCC 29212</i> .....	35
<b>Tabla 3</b> <i>Comparación de la Actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio al 3% entre grupo control y 37 °C, sobre Enterococcus faecalis ATCC 29212</i> .....	36
<b>Tabla 4</b> <i>Comparación de la Actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio entre grupo control y 40 °C, sobre Enterococcus faecalis ATCC29212</i> .....	37
<b>Tabla 5</b> <i>Comparación de la Actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio entre grupo control y 45 °C, sobre Enterococcus faecalis ATCC29212</i> .....	38
<b>Tabla 6</b> <i>Prueba de normalidad, influencia de la temperatura sobre la actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio al 3% frente al Enterococcus Faecalis TCCA 29212</i> . ....	55
<b>Tabla 7</b> <i>Prueba de normalidad (prueba piloto), influencia de la temperatura sobre la actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio al 3% frente al Enterococcus Faecalis ATCC 29212</i> . ....	59

## 10. Índice de gráficos

<b>Gráfico 1</b> <i>Influencia de la temperatura sobre la actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio al 3% frente al <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 29212</i> .....	56
<b>Gráfico 2</b> <i>Actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio entre grupo control y 37 °C, sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC29212</i> .....	57
<b>Gráfico 3</b> <i>Actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio entre grupo control y 40 °C, sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC29212</i> .....	57
<b>Gráfico 4</b> <i>Actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio entre grupo control y 45 °C, sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC29212</i> .....	58

## I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad la caries es calificada como una *disbiosis* debido a que las bacterias que producen viven en nuestro organismo y potencialmente pueden causar enfermedades, pero bajo condiciones balanceadas el sistema inmune no forja una respuesta defensiva contra ellas. Esta enfermedad afecta tanto la corona como la raíz del diente y la ausencia de su atención causa la pérdida del órgano dentario.<sup>1</sup>

En las alteraciones dentino pulpar, ya sea por caries, traumatismo o por procedimientos iatrogénicos, que favorecen a la colonización bacteriana del conducto radicular, y así ayudando con el crecimiento microbiano mixto, donde sobresalen los anaerobios. Finalmente las bacterias crean una biopelícula que se adhiere a las paredes del conducto radicular.<sup>2</sup>

El *Enterococcus faecalis*, un coco Gran positivo, el que es causante principal de las infecciones endodónticas, en consecuencia la cavidad bucal se ha convertido en un reservorio, donde esta bacteria ha sobrevivido, y estaría relacionada con el estado de salud bucal del paciente, ya que estaría facilitando la proliferación de este microorganismo hacia los conductos radiculares.<sup>2</sup>

Este microorganismo tiene la capacidad de sobrevivir y desarrollarse en microambientes tóxicos para otras bacterias.<sup>1</sup> de ahí la capacidad de supervivencia en los conductos radiculares por lo cual los dientes que se encuentran con tratamiento endodóntico suelen sufrir de diversas infecciones. Es por ello que el hipoclorito de sodio de característica alcalina, líquido claro, verde, pálido, amarillento, y con olor penetrante a clorino, el cual actúa como un potente antibacteriano con acción disolvente en tejido necrótico, restos orgánicos y tejido pulpar.<sup>2</sup> por ello el uso de esta sustancia como irrigante intraconducto.<sup>5</sup> es el irrigante de elección, para completar con

la limpieza del conducto radicular, actúa como un lubricante tras hidratar las paredes dentinarias lo que facilita la preparación biomecánica. Su efecto antibacteriano de gran espectro eliminando hongos, virus, bacterias, esporas. En la actualidad el hipoclorito de sodio tiene un gran poder bactericida frente al *Enterococcus faecalis*.<sup>9</sup> Por esto este estudio busca profundizar e incentivar la investigación del hipoclorito de sodio como irrigante endodóntico sometido a diferentes grados de temperatura, donde se confronta al hipoclorito de sodio con los nichos bacterianos (*Enterococcus Faecalis*), por cinco minutos a las temperaturas de 37 °C, 40 °C y 45 °C, se hicieron diluciones seriadas con solución salina fisiológica y posteriormente se sembró 0,1 ml de dilución de cada una de las dos últimas diluciones en placas de agar Müller Hinton, se llevó a secar a estufa de 37°C por 10 minutos e incubó a la misma temperatura por 24 horas. Finalmente, se realizó el conteo de colonias y se multiplicó por la inversa de la dilución, expresándose la población sobreviviente en UFC/ml en cada uno de los sistemas de ensayo, con el interés de corroborar su propiedad antibacteriana, para cubrir la necesidad de brindarle al paciente, una solución eficaz, y disminuir el riesgo de fracaso del tratamiento endodóntico. Y es así que la endodoncia convencional cumple un rol importante en la odontología.

La erradicación de los microorganismos en el conducto radicular durante el procedimiento endodóntico es fundamental para el éxito del tratamiento, y para la preservación de los órganos dentarios, para obtener una completa eliminación de los microorganismos endodónticos presentes.<sup>4</sup> ya que diversos estudios de investigación han demostrado que el fracaso de esta maniobra conlleva a alteraciones periapicales y pulpares. Cuando las bacterias ya han colonizado el conducto radicular, el mecanismo de defensa no puede eliminarlas por sí solo, es por ello que el procedimiento químico mecánico, contribuye con la erradicación del tejido pulpar contaminado por bacterias,

y el acondicionamiento del conducto radicular favorece a la obturación, que ayuda a la regeneración de los tejidos periapicales. Por lo cual el objetivo del estudio es determinar influencia de la temperatura sobre la actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio al 3% frente a *enterococcus faecalis* ATCC 29212. Teniendo como objetivo general Comparar la influencia de la temperatura sobre el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 3% a 37°C, 40°C y 45°C ante el *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 in vitro. Los resultados en relación al conteo de UFC, mostraron los valores de  $2.38 \times 10^7$  a 37 °C,  $1.31 \times 10^5$  a 40 °C y  $9.23 \times 10^2$  a 45 °C. Se encontró diferencia significativa entre estos valores siendo el hipoclorito de sodio al 3 % a 45 °C más eficaz que a 40 °C y 37 °C, se concluyó que al elevar la temperatura del hipoclorito de sodio, aumenta su efecto antibacteriano frente a la cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

## **II. REVISIÓN DE LA LITERATURA**

## 2.1. Antecedentes

Chávez L.<sup>10</sup> (Perú, 2018), efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de caesalpina spinosa (taya) en comparación a hipoclorito de sodio al 5.25%, sobre *Enterococcus faecalis*. El objetivo de este estudio es comparar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de caesalpina spinosa (taya) con hipoclorito de sodio al 5.25%, sobre cepas de *Enterococcus faecalis*, Se realizó un estudio experimental donde las cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 fueron sembradas en un medio de cultivo Muller Hinton, y se colocaron discos embebidos en el extracto de caesalpina spinosa al 25%, 50% y 75% e hipoclorito de sodio al 5.25% y con una regla vernier se midieron los halos de inhibición. Para determinar (UFC) se utilizó método de solución de tubos del extracto en sus diferentes concentraciones y el hipoclorito de sodio en un cultivo de 0.1ml de agar Mueller Hinton, y se incubó a 37°C por 24 horas. Los resultados mostraron que el *Enterococcus faecalis* es altamente sensible al el hipoclorito de sodio al 5.25% y el extracto etanólico de caesalpina spinosa en sus 3 concentración, y en la UFC del hipoclorito de sodio al 5.25% fue de 2.4 y para el extracto etanólico de caesalpinia spinosa 4.8 al 25%, 3.6 al 50% y 2.6 al 75%. Dio como resultado que la mayor efectividad antibacteriana fue del extracto según el diámetro de halo de inhibición en comparación al hipoclorito de sodio frente al crecimiento de la cepa del *Enterococcus faecalis*.

Guijarro S.<sup>11</sup> (Ecuador, 2017) inhibición del *Enterococcus faecalis*: análisis in vitro del efecto antimicrobiano del hipoclorito de sodio a diferentes temperaturas, solo y combinado con agitación. En este estudio in vitro, experimental y comparativo se trató sobre la ventaja bactericida del hipoclorito de sodio al 2.5%

sometido a las temperaturas de 37 °C y 50 °C, con el fin de eliminar las cepas del *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, se utilizaron 36 tubos de ensayo divididos en dos grupos. Dieciocho tubos de ensayo cada grupo, los que a su vez se subdividirán en dos grupos diferentes de nueve tubos cada uno. Los dos primeros subgrupos fueron confrontados con la solución de hipoclorito al 2.5% a la temperatura de 37 °C y el segundo grupo a 50 °C. Cada subgrupo fue agitado durante dos minutos con el vórtex. El grupo control negativo fue solución salina. Se utilizó la metodología por conteo de Unidad Formadora de Colonias donde las cepas fueron cultivadas en placas Petri para su recuento bacteriológico a las 48 horas. La inhibición de crecimiento del *Enterococcus faecalis* a 37 °C disminuyó con agitación, con 6.5 colonias por ml, lo que no paso con los expuestos a 50 °C que alcanzó a 157,11 colonias por ml y los resultados sin agitación mostró 17.44 colonias por ml a 37 °C y 194.77 colonias por ml a 50 °C. Se finalizó que la agitación con el vortex del hipoclorito de sodio al 2.5% a 37 °C previa a la cultivación en las placas Petri contribuye a la eliminación de las cepas de *Enterococcus faecalis* y la exposición a 50 °C altera sus propiedades químicas dando como resultado una baja inhibición de *Enterococcus faecalis*.

Pajuelo S.<sup>12</sup> (Perú, 2015) efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 2.5% a cambios de temperatura ante el *Enterococcus faecalis* ATCC29212 in vitro. En su tesis busco de evaluar el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 2.5% a temperaturas de 30°C, 37°C y 40 °C, frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Su estudio se realizó en 63 placas Petri, repartidas en 3 grupos de 21 unidades, obtenida la cepa, está se cultivó en tubos de ensayo contenido agar soya tripticasa, con el fin de obtener colonias jóvenes. Obtenidas las temperaturas se realizaron los cultivos en los tres grupos de estudio que contenían 1 ml de

hipoclorito de sodio al 2.5% a 30°C, 37°C y 40 °C, y un grupo control con solución salina. Luego se adicionaron 0,2 ml de la cepa bacteriana: *Enterococcus faecalis* en los tubos de ensayo de cada grupo, con el objetivo de obtener colonias contables. Luego se sembraron en placas Petri y se incubaron a 37 °C por 24 horas. Se determinó su eficacia por el conteo de UFC. Los resultados mostraron que el hipoclorito de sodio al 2.5% a una temperatura de 40 °C el promedio de unidades formadora de colonias (UFC) de *Enterococcus faecalis* 0 UFC/ml, y a la temperatura de 37 °C el promedio de (UFC) de *Enterococcus faecalis* 2x10<sup>3</sup> UFC/ml y el de 30 °C el promedio de (UFC) de *Enterococcus faecalis*, 6x10<sup>3</sup> UFC/ml. Se determinó que el hipoclorito a 40 °C presenta mejor efecto antibacteriano.

De Almeida, A et al.<sup>13</sup> (Brasil, 2014), Evaluación comparativa del hipoclorito de calcio y el hipoclorito de sodio asociados con la irrigación ultrasónica pasiva sobre la actividad antimicrobiana de un sistema de conducto radicular infectado con *Enterococcus faecalis*: un estudio in vitro. El objetivo fue comparar in vitro la efectividad del hipoclorito de calcio Ca (OCl)<sub>2</sub> 2.5% y el hipoclorito de sodio 2,5% asociados con la irrigación, frente a dientes uniradiculares de bovino infectados con *Enterococcus faecalis*. Luego las soluciones se sometieron a temperatura de 37° C se inocularon con *Enterococcus faecalis* durante 48 horas. Las muestras se dividieron en 6 grupos (n = 10) según el protocolo de descontaminación: G1: sin tratamiento; G2: agua destilada; G3: 2,5% de NaOCl; G4: 2,5% de Ca (OCl)<sub>2</sub>, G5: NaOCl al 2.5% con activación ultrasónica; y G6: 2,5% de Ca (OCl)<sub>2</sub> con activación ultrasónica (EE. UU.). Se realizaron pruebas microbiológicas (recuento de unidades formadoras de colonias [UFC]) para evaluar y mostrar, respectivamente, la efectividad de los tratamientos propuestos.

Los resultados de los grupos 1 y 2 mostraron la contaminación media más alta (3,26 log<sub>10</sub> UFC / ml y 2,69 log<sub>10</sub> UFC / ml, respectivamente), que fue estadísticamente diferente de todos los demás grupos (P <0,05). El grupo 6 (Ca [OCl] 2 + EE. UU.), mostró la contaminación media más baja (1,00 log<sub>10</sub> UFC / ml), sin diferencias estadísticamente significativas en los grupos 3 (NaOCl), 4 (Ca [OCl] 2) y 5 (NaOCl + EE. UU.). Se concluyó que el Ca (OCl) 2% y NaOCl 2,5%, pueden ayudar en la preparación químico-mecánica, contribuyendo de manera significativa a la reducción del contenido microbiano.

Valera M. et al <sup>14</sup> (Brasil, 2013), Actividad antimicrobiana in vitro de sustancias químicas auxiliares (irrigantes) y extractos naturales en *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis*. El objetivo fue evaluar la actividad antimicrobiana de las sustancias químicas auxiliares y extractos naturales sobre *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis*. La metodología que se usó fue asignar setenta y dos piezas unirradiculares los cuales estaban contaminados con *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis* durante 21 días. Se dividieron en grupos las sustancias siguientes: G1) Hipoclorito de Sodio (NaOCl) al 2,5%, G2) gel de clorhexidina al 2% (CHX), G3) aceite de ricino, G4) extracto glicólico de aloe vera, G5) extracto glicólico de jengibre, y G6) solución salina estéril (control). Las 20 muestras de cepas de los conductos radiculares se recolectaron a intervalos diferentes: se realizó una primera recolección para confirmar la presencia de microorganismos a los 21 días después de la contaminación; luego una segunda recolección, después de la instrumentación; y una tercera recolección, siete días después de la instrumentación. Las muestras microbiológicas se cultivaron en medio de cultivo y las sustancias se sometieron a una temperatura de 37°C durante 48 horas. Donde el aceite de ricino y el jengibre redujeron significativamente el número de UFC

de las bacterias ensayadas. La reducción de UFC / ml en la 2ª y 3ª recolección para los grupos G1, G2, G3 y G4 fue mayor en comparación a los grupos G5 y G6. Se concluyó que Hipoclorito de Sodio al 2,5% y el gel de clorhexidina al 2% fueron más eficaces en la eliminación de *C. albicans* y *E. faecalis*.

Carhuayo M.<sup>15</sup> (Perú, 2011), Evaluación in vitro de la eficacia antibacteriana de los irrigantes endodónticos hipoclorito de sodio al 1% a temperatura de 37° y agua ozonizada frente a una cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. El objetivo fue determinar la eficacia antibacteriana del hipoclorito de sodio al 1% a una temperatura de 37 °C y del agua ozonizada 20 mg/L frente a una cepa de *Enterococcus faecalis* in vitro. La metodología que se usó fue evaluar 20 placas petri con la cepa del *Enterococcus faecalis* sembrado. 10 con la solución de hipoclorito de sodio y 10 con el agua ozonizada. En relación al agua Ozonizada 20 mg/l, los resultados mostraron que el promedio de unidades formadora de Colonias UFC) de *Enterococcus faecalis* que se encontró fue igual a 3.49 UFC x 10<sup>6</sup> en los tiempos 24 y 48 horas, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ) entre ambos tiempos. En relación al NaOCL 1% a una temperatura de 37 °C el promedio de UFC de *Enterococcus faecalis* en los tiempos 24 y 48 horas fue 0. Se concluye que al comparar el NaOCl 1% a una temperatura de 37 °C y el Agua Ozonizada 20 mg/L se encontró diferencias estadísticamente significativas en los tiempos 24 y 48 horas ( $p = 0.001$ ).

Barrantes G.<sup>16</sup> (Perú, 2010), Evaluación in vitro de la eficiencia antibacteriana del hipoclorito de sodio al 1%, 2.5% y 5.25% a diferentes temperaturas frente a cepas de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). Se evaluó la actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio en sus concentraciones de 5,25%, 2.5% y

1% a temperaturas de 20 °C, 37 °C Y 45 °C contra el *Enterococcus faecalis*, en una muestra de 91 tubos de ensayo, se tomó 1 ml de cada grupo y fue colocado en 3 tubos de ensayo conteniendo caldo de tioglicolato con la cepa de *Enterococcus faecalis* sembrada, seguido cada tubo fue colocado a 20 °C, 37 °C y 45 °C por un tiempo de 3 min. De cada tubo se tomó una muestra para inocularla en placas contenidas de agar-sangre a 37 °C, para hacer el recuento de UFC a las 24 horas. Los resultados mostraron que el promedio de unidades formadora de colonias (UFC) de *Enterococcus faecalis* para la concentración del hipoclorito de sodio al 1% a 20 °C fue de 2 UFC, a 37 °C fue de 1 UFC y a 45 °C fue de 0 UFC, para la concentración de 2.5% a 20 °C fue de 1 UFC, a 37 °C fue de 1 UFC y a 45 °C fue de 0 UFC y para la concentración de 5.25% a 20 °C fue de 1 UFC, a 37 °C fue de 1 UFC y a 45 °C fue de 0 UFC. Donde no se evidencio mucha diferencia de la actividad antibacteriana en relación a la concentración del hipoclorito de sodio a las diferentes temperaturas.

## **2.2. Bases teóricas de la investigación.**

### **2.2.1 Biofilm**

La OMS, describe al biofilm como un ecosistema bacteriano proliferante y enzimáticamente activo. Se describe que el biofilm se une a superficies inertes, ya sea biológicas o sintéticas. Las biológicas refieren tejidos necróticos.

Durante su crecimiento produce en el paciente signos y síntomas leves o imperceptibles, debido a su pobre división bacteriana, la capacidad de resistencia es su principal propiedad del biofilm y no su virulencia, donde su avance es lento y leve, pero de difícil eliminación.<sup>17</sup>

El biofilms es el conjunto de células que van adheridas a la superficie empapadas en una matriz de exolisacáridos. Cuando el biofilms coloniza el conducto radicular virgen o en condiciones normales, este genera una reacción periapical inflamatoria.<sup>17</sup>

En su estudio RICUCCI & SIQUEIRA (2010)<sup>17</sup> señalaron que la periodontitis apical según PARSEK & SINGH (2003)<sup>17</sup>, cumple ciertos criterios; la bacterias tienen una afinidad a un sustrato; el microorganismo debe estar sumergidas en una matriz producida por sí mismo o por el hospedero; donde la infección es localizada y resistente a los antibióticos.<sup>17</sup>

La biopelícula se ha caracterizado por las células que están unidas a un sustrato. Los beneficios que ofrece la biopelícula es la protección contra la muerte por agentes antimicrobianos. Hay tres mecanismos que otorgan tolerancia microbiana a las células que viven en un biofilm. La primera es la barrera de propiedades de la matriz, las enzimas extracelulares, como la lactamasa, pueden quedar atrapadas y concentrarse en La matriz, inactivando así los antibióticos lácticos. El segundo involucra el estado fisiológico del biofilm donde las células del biofilm toman Agentes antimicrobianos más lentamente. Tercero, la tolerancia a los antimicrobianos esto se debe a que los microorganismos en el biofilm perciben diversidad metabólica. Los estudios han demostrado la capacidad adaptativa de los microorganismos en condiciones anaerobias y aerobias, por lo tanto la biopelícula no se verán afectadas de la misma manera. Para concluir

se ha estudiado que existe una subpoblación de microorganismos persistentes, que es resistente a la muerte por Antimicrobianos.<sup>18</sup>

### **2.2.2. ENTEROCOCCUS FAECALIS:**

La bacteria *Enterococcus Faecalis* posee forma de coco en pares o cadenas, del grupo Gram positivo, no esporulada, anaerobia facultativa e inmóvil. El tamaño de esta bacteria se encuentra entre 0,5 y 0,8 micrómetros encontrándose normalmente en el tracto gastrointestinal. Tiene una pared celular la cual contiene componentes como el antígeno D, poseedor de ácido lipoteicoico asociado con la membrana citoplasmática de la bacteria.<sup>19</sup>

Es un coco Gram positivo que puede crecer individualmente, en pares o cortas cadenas, son anaerobios facultativos, que poseen la capacidad de crecer en presencia o ausencia de oxígeno. Esta especie vive en grandes cantidades (10<sup>5</sup>-10<sup>8</sup> unidades formadoras de colonias por gramo de heces) en la luz intestinal humana. Pueden crecer en un rango de 10°C a 45°C y sobrevivir a una temperatura de 60 °C durante 30 min.<sup>20</sup>

Los enterococcus sobreviven a ambientes extremos, como el pH de 9.6 alcalino extremo, donde este habitualmente inhabilita el desarrollo de otras bacterias.<sup>20-21</sup>

Este microorganismo se ha apoderado de la cavidad bucal y en consecuencia lo convertido en uno de sus hábitats, donde es normal encontrarlo. Los pacientes que han tenido una historia endodoncia o se encuentran en el inicio o a la mitad del tratamiento que están asociadas

a enfermedades perirradicular y a su vez tienen infecciones endodónticas primarias e infecciones persistentes, donde la población de *Enterococcus Faecalis* es mayor, en comparación con el que no cuenta con ningún tratamiento de conducto o enfermedad perirradicular. En los casos fallidos de tratamiento de conducto radicular tienen nueve veces más probabilidad de contener *enterococcus faecalis* que las infecciones endodónticas primarias.<sup>20</sup>

Por otro lado se sabe que son resistentes a la lincomicina, kanamicina, clindamicina, gentamicina, estreptomina e hidróxido de calcio, siendo sensibles a la clorhexidina y otros antibióticos.<sup>22-23</sup>

### **2.2.3. TRATAMIENTO ENDODÓNTICO**

Cuando las bacterias invaden y colonizan el conducto radicular, estas no pueden ser suprimidas por el mecanismo de protección del huésped, es por eso que las infecciones perirradiculares son tratadas inicialmente mediante procedimientos químico- mecánicos.<sup>24</sup>

En el tratamiento endodóntico, se utilizan agentes químicos para completar la limpieza ya que la instrumentación por sí sola no cumple este objetivo.<sup>25-26</sup>

Las características de los agentes químicos o irrigantes, deben cumplir una serie de condiciones como la capacidad bactericida, lubricación, filtrar hacia fuera del conducto radicular el detritus hecho durante la instrumentación, y la no menos importante la capacidad de disolver tejido orgánico, así como vital y necrótico.<sup>25-26</sup>

El hipoclorito de sodio actualmente es el irrigante de primera elección, en sus diferentes concentraciones ya que posee propiedades bactericidas y de disolución de tejido vital y necrótico.<sup>27-28</sup>

Se conoce que el enterococcus faecalis se encuentra en la composición de la flora bacteriana de los conductos radiculares necróticos, donde se ven afectados por diferentes factores locales: la cantidad de oxígeno, acceso y disponibilidad de nutrientes, el sinergismo bacteriano y el sistema de defensa del huésped. En la periodontitis apical la colonización bacteriana es únicamente anaerobia, y en algunos casos con bacterias facultativas, y por otro lado en dientes tratados endodónticamente y con periodontitis apical, la ecología no es exclusivamente anaerobias.<sup>29</sup>

Por lo tanto diversos investigadores y clínicos recomiendan realizar el tratamiento de los conductos infectados, con o sin compromiso periapical en más de una cita, donde se introducirá en el interior del conducto una medicación para aumentar la desinfección de este.<sup>30</sup>

#### **2.2.4. IRRIGACIÓN**

La irrigación en endodoncia, se conoce como el lavado de la cavidad pulpar, durante la preparación de los conductos radiculares, donde se introduce una o más soluciones durante todo el proceso de la preparación biomecánica para eliminar y desinfectar la cavidad pulpar y certifique el éxito del tratamiento.<sup>31</sup> La irrigación cumple una función biológica, química y física en el tratamiento de los conductos radiculares.<sup>32</sup>

#### **2.2.4.1. OBJETIVOS DE LA IRRIGACIÓN<sup>12</sup>**

- Con el fin de evitar el taponamiento del conducto el irrigante debe cumplir la función de arrastre físico y limpieza de los restos pulpares.
- Acción detergente y de lavado.
- Acción antiséptica o desinfectante.
- Debe mantener lubricado y húmedo las paredes de los conductos para facilitar la instrumentación y el trabajo de corte del instrumento.
- Disolvente de agentes que se forman en el conducto radicular en el momento de la instrumentación, y estos son orgánicos e inorgánicos
- Favorecer la energía superficial de las paredes, permitiendo a los medicamentos usados en el tratamiento se adhieran con mayor facilidad.

#### **2.2.4.2. PROPIEDADES DE UNA SOLUCIÓN IRRIGADORA**

Las diversas técnicas de instrumentación para la conformación del canal radicular han sido diseñadas para facilitar la remoción de tejidos blandos y calcificados y así llegar a la obturación radicular. Por la complejidad e irregularidades de los conductos dentarios, es necesaria una buena solución irrigadora que permitirá la supresión e inhibición de los microorganismos, y a la misma vez la disolución de detritos y sustratos .<sup>33</sup>

Por lo tanto es importante conocer las características y propiedades de los distintos agentes de irrigación, ya que la selección de este no debe ser al azar. Todo irrigante debe poseer:<sup>34</sup>

- Propiedad lubricante para facilitar el deslizamiento de los instrumentos y mejorar sus capacidad de corte.
- Capacidad antibacteriana
- Capacidad residual
- Capacidad de disolver tejido pulpar vital y necrótico
- Escasa toxicidad para los tejidos vitales del periodonto
- Acción rápida y sostenida.

## **2.5. IRRIGACION DE LA CAVIDAD ENDODONTICA<sup>35</sup>**

Las principales causas de los fracasos endodonticos, es la supervivencia de los microorganismos, como restos en el conducto radicular después del tratamiento o recolonicen el conducto obturado. Es por eso que se debe enfatizar en la desinfección y prevenir la reinfección de los conductos tratados endodónticamente.<sup>35</sup>

Durante todo el tratamiento de conductos y el cerrado definitivo o temporal, la irrigación es el paso primordial.<sup>35</sup>

La limpieza o arrastre físico de todo el contenido que se encuentra en el sistema pulpar, se realiza con el irrigante de mayor elección que cumple las características de disolver el tejido necrótico remanente. Los conductos

infectados se llenan de materiales potencialmente inflamatoria. La irrigación por si misma puede sacar estos materiales minimizándolos o eliminando su efecto. La repetición se la irrigación debe incrementarse en la medida que los instrumentos se aproximen a la constricción apical. Una cantidad apropiada es de 2ml cada vez que se realice la conformación de conductos.<sup>35</sup>

La acción detergente cumple la función de desprender a base de espuma y burbujas de oxígeno naciente, a los medicamentos usados, en el tratamiento. Por otro lado la acción antiséptica o desinfección se encargaran de la inactivación de las endotoxinas. Se sabe que el hipoclorito de sodio puede aniquilar todos los microbios, virus y bacterias que se forman por esporas, en los conductos radiculares incluso en mínimas concentraciones pero a un nivel menor.<sup>35</sup>

## **2.6. ELIMINACIÓN DE MICROBIOS:**

En el proceso químico-mecánico ocurren: la eliminación de la mayor cantidad de, colonias, primordialmente en la entrada del conducto comprometido, donde se forma el smear layer sobre todas las paredes tratadas con el instrumental y finalizando el taponamiento por el debris en las zonas no conformadas.<sup>17</sup>

## **2.7. IRRIGANTES EN EL TRATAMIENTO DE CONDUCTOS**

Hay diferentes soluciones, entre ellas el hipoclorito de sodio en concentraciones de (5.25%, 3%, 2.6%, 1% o 0.5%) o este compuesto mezclado con agentes quelante o para irrigación.<sup>36</sup>

Por otro lado se utiliza la solución salina, agua, solución anestésica, peróxido de hidrogeno al 3%, agentes quelante como EDTA, EDTAC y FileEze, salvizol, peróxido de urea, ácidos fosfóricos 50%, láctico 50% y cítrico 6 a 50%. Otras soluciones como la cloramina T 5%, o Iodopax al 0.4%, Biosept al 0.1% e Hibitaneal 0.1%.<sup>37</sup>

## **2.8. HIPOCLORITO DE SODIO**

La asociación americana de endodoncia, ha definido al hipoclorito como líquido claro, pálido, verde-amarillento, extremadamente alcalino y con fuerte olor a cloro, que se caracteriza por su acción disolvente sobre el tejido necrótico y restos orgánicos y por ser un potente agente antimicrobiano.<sup>38</sup>

Es un agente efectivo contra un amplio espectro de microorganismos patógenos: Gram positivos, Gram negativos, hongos, esporas y virus incluyendo el virus de inmunodeficiencia adquirida.<sup>35</sup>

Cuando se utiliza el hipoclorito de sodio a concentraciones inferiores a 2.5% esta elimina la infección, pero no es muy eficaz para disolver los restos pulpares y se recomienda en los tratamientos usarlo por un tiempo prolongado y alargando el tratamiento.<sup>35</sup>

Para la disolución más rápida de los tejidos, algunos investigadores recomiendan calentar la solución de hipoclorito de sodio.<sup>35</sup>

Para garantizar el poder de disolución del hipoclorito de sodio, se relaciona con la estructura del tejido conjuntivo de la pulpa, ya que puede acelerar el proceso de disolución si esta, está descompuesta, pero en cambio si la infección en una pulpa vital donde hay escasa degradación estructural, el poder disolvente del hipoclorito toma más tiempo para diluir los restos, donde se recomienda dejar actuar por más tiempo para obtener la disolución hasta de los conductos accesorios.<sup>35</sup>

En los estudios microscópicos in vitro se ha demostrado que en el contacto directo entre hipoclorito de sodio con el del biofilms adheridos a la dentina (microorganismos) la efectividad de disolución es óptima. Por otro lado existen factores extras que obtienen perturbar la capacidad antimicrobiana del irrigante, como: tiempo de exposición de la dentina con la solución irrigadora, compuesto orgánicos e inorgánicos y los factores anatómicos.<sup>39</sup>

Una de las desventajas del hipoclorito de sodio, es que es incapaz de remover el smear layer y en las irregularidades del conducto radicular, no evita la acumulación de debris dentinario.<sup>39</sup>

El smear layer y debris dentinarios son agregados inorgánico, y estos limitan al hipoclorito actuando como: barreras físicas, inadecuada difusión en el conducto radicular, inactivan o disminuyen la potencia antimicrobiana del hipoclorito de sodio ya que la dentina consume parte de la cantidad de cloro de la solución.<sup>39</sup>

El los avances del área se ha denominado un nuevo método de irrigación, llamada “quelación continua”, donde involucra la solución de

hipoclorito de sodio y el quelante (ácido Etidrónico), donde el hipoclorito sirve para la disolución de tejido orgánico del sistema radicular, y el ácido Etidrónico evita la formación de smear layer y acumulación de debris durante la conformación de conductos. Se sabe que la unión de estos dos componentes no altera la concentración de cloro activo de la solución, ni la capacidad de disolución de los tejidos y su acción antimicrobiana. En el futuro, este sería el irrigante de primera elección.<sup>39</sup>

Propiedades provechosas durante la terapia endodóntica del Hipoclorito de Sodio<sup>40</sup>

- En la preparación biomecánica de los conductos radiculares el hipoclorito realiza el desbridamiento que es la expulsión de los dentritos.
- Para favorecer la instrumentación es necesario la lubricación de las paredes del conducto radicular
- Agente microbiano eficaz, destruye y elimina todos los microorganismos incluyendo virus y bacterias que se forman por esporas.
- Disolución de los tejidos, el hipoclorito reacciona con residuos orgánicos en el conducto radicular.
- Baja tensión superficial, gracias a esta propiedad le permite penetrar a todos las concavidades del conducto radicular.

Cuando el lavado final se realiza con Hipoclorito de Sodio, algunos estudios han demostrado que no es capaz de remover la capa de desechos

y lo han relacionado con su capacidad de penetración y su concentración, cuando se encuentre del 1 % puede penetrar 100 micras a los canalículos dentinarios al 25% penetra 220 micras y al 5.25% penetra 350 micras. <sup>40</sup>

## **2.8.1. FACTORES QUE ALTERAN LAS PROPIEDADES DEL**

### **HIPOCLORITO DE SODIO:**

#### **1.- TEMPERATURA:**

En un estudio de disolución de tejidos, se ha comprobado que el aumentar la temperatura del hipoclorito de sodio en conjunto con la activación ultrasónica y el alargamiento del tiempo de trabajo, mejora la eficacia de la solución. Se ha recomendado que el precalentamiento del antibacteriano de concentración baja, esta mejora su capacidad de disolución de tejidos <sup>40</sup>

El aumento de temperatura tiene efecto positivo sobre la acción disolvente del Hipoclorito de Sodio. Estudios han demostrado que a temperaturas de 35.5°C este aumenta su poder solvente contra los tejidos necróticos, y a una temperatura de 60 ° C la disolución de tejidos frescos. Las soluciones al 5.2% y 2.6% según Gambarini O. Cunningham demostraron que su efectividad es similar a una temperatura de 37°C, por otro lado la concentración de 2.6% a una temperatura ambiente de 21°C es menos eficaz. Por lo tanto el calentamiento aumenta el efecto bactericida del hipoclorito de sodio.<sup>41</sup>

2.- Dilución: La dilución del hipoclorito al 5.25% disminuye la propiedad antimicrobiana, la propiedad de disolución del tejido y la propiedad de corte del sistema de conductos.<sup>41</sup>

3.- Grado de pureza: está clasificado de acuerdo a su porcentaje diferencial en, menos puro del 96% y más puro de 96 a 100% donde sus tasas de contaminación son escasas. Se recomienda no usar hipoclorito de uso doméstico ya que estas presentan un grado de pureza de 60% lo cual no están estandarizados para el proceso de irrigación de desechos dentinarios.<sup>41</sup>

4. Combinación con otras sustancias: Existen 2 preferencias en una se hace énfasis en las propiedades químicas del agente irrigante y en otra la mayor consistencia en la acción mecánica de la solución como agente de arrastre.<sup>41</sup>

## **2.8.2. EFECTO ANTIBACTERIANO**

El hipoclorito de sodio es un agente de amplio espectro contra los microorganismos patógeno: bacterias aerobios y anaerobios, hongos, esporas y virus incluyendo el VIH. Con una actividad antimicrobiana promedio de 72 horas. Se dice que la concentración del hipoclorito está relacionada con su toxicidad, su propiedades disolventes y antimicrobianas. Spangberg y colaboradores evaluaron in vitro la concentración del hipoclorito al 1% fue considerada como óptima para balancear la toxicidad contra su actividad antimicrobiana.<sup>38</sup>

Cuando una solución de hipoclorito de sodio presenta un porcentaje de cloro menor de 0.3% esta no es efectiva contra *Candida albicans* y el *Enterococcus faecalis*. Mientras tanto en una concentración de 0.5% son efectivas con un periodo de acción de 15 segundos contra estos microorganismos.<sup>38</sup>

### **III. HIPÓTESIS**

El hipoclorito de sodio al 3% a 45°C produce un mejor efecto antibacteriano que a 37°C y 40°C frente al *Enterococcus faecalis* ATCC29212 in vitro.

## **IV. METODOLOGÍA.**

### **4.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN**

Cuantitativo: son aquellos cuyos valores del dominio de variación son contados o medidos y emplea la estadística para resolver los objetivos trazados.<sup>42</sup>

### **4.2 NIVEL DE INVESTIGACIÓN**

Explicativo: ya que relaciona (causa –efecto) y buscará describir o acercarse al problema y encontrar las causas del mismo.<sup>42</sup>

### **4.3 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN**

- Transversal: Porque se realizó observaciones en un momento único en el tiempo dentro del estudio.<sup>42</sup> Se realizó las mediciones en un solo tiempo a las 24 horas.
- Experimental, Se manipuló una o más variables independientes, ejerciendo el máximo control.<sup>42</sup> En el estudio se manipuló la temperatura del hipoclorito de sodio al 3%
- Prospectivo, Porque mide la variable dependiente cuando se inicie el estudio.<sup>42</sup> Se midió el efecto antibacteriano sobre el *Enterococcus faecalis*.
- Analítico, Porque consiste en la segmentación de un todo, descomponiéndolo en sus partes o elementos para observar las causas, la

naturaleza y los efectos.<sup>42</sup> En el estudio se analizó las diferentes temperaturas al que fue sometido el hipoclorito de sodio.

## EL UNIVERSO Y MUESTRA

- a. Universo: Cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 2912
- b. Población: 100 ul de alícuota de Cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 2912
- c. Criterios de selección:

✓ Criterios de inclusión

- Placas inoculadas con cepas *Enterococcus faecalis* ATCC 2912

✓ Criterios de exclusión

- Placas con halos de inhibición no muy claros
- Placas con signos de alteraciones o contaminación.

d. Muestra:

Tamaño de Muestra Para determinar el tamaño de la muestra, por ser experimental se empleó la siguiente formula

$$n = 2 \left( Z_{\frac{\alpha}{2}} + Z_{\beta} \right)^2 (DE)^2 / d^2$$

Dónde: n: Tamaño de muestra para el grupo de estudio.

$\alpha$ : Probabilidad de cometer error tipo I.

$\beta$ : Probabilidad de cometer error tipo II.

Z: Valor estándar de la distribución normal asociada a un tipo de error.

DE: Desviación estándar.

d: Diferencia entre promedios para rechazar igualdad de medias.

**Requerimientos:**

De una confianza al 99% ( $\alpha=0.01$ ,  $Z=2.57$ ), y una potencia en la prueba del 80% ( $\beta=0.20$ ,  $Z=0.84$ ), para ( $DE/d=0.65$ ).

$$n=2(2.57 + 0.84)^2(0.65)^2$$

$$n=10$$

Se utilizó 10 placas Petri por temperatura, con un total de 40 placas.

### 4.3. DEFINICION Y OPERALIZACION DE VARIABLES E INDICADORES:

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Valores finales	Tipo de variable	Escala de medida de la variable
Efecto antibacteriano Sobre E. feacalis Variable dependiente	Es el efecto que un agente pueda provocar la muerte de la bacteria. (Susceptibilidad bacteriana.) <sup>43</sup>	Inhibición en el desarrollo y crecimiento de las bacterias debido a la presencia del hipoclorito de sodio al 3%	Cantidad de unidades formadoras de colonias. Según el conteo de UFC a) Muy alta: (0 UFC/ml) b) Alta: (Menos de $10^3$ UFC/ml) c) Moderada: ( $10^3$ - $10^5$ UFC/ml) d) Baja: ( $10^6$ - $10^8$ UFC/ml) e) Muy baja: (más de $10^8$ UFC/ml) <sup>44</sup>	Cantidad de colonias	Cuantitativa	razón
Temperatura del Hipoclorito de sodio al 3% Variable independiente	Solución química utilizada para la desinfección y limpieza del sistema de conductos radiculares. <sup>43</sup>	Sustancia química que se utiliza para inhibir el crecimiento del <i>Enterococcus faecalis</i> .	Concentración:	3%  37°C 40°C 45°C	Cualitativa	Ordinal

#### **4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos:**

##### **TÉCNICA:**

Observación microbiológica directa.

##### **INSTRUMENTO:**

- Las actividades fueron realizadas según el cronograma de actividades
- Se utilizó una ficha de recolección de datos para anotar la evaluación de la eficacia de la temperatura en el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 3% sobre las cepas *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, a las 24 horas. (Anexo 1).

#### **PROTOCOLOS EXPERIMENTALES**

##### **OBTENCIÓN DE LA CEPA:**

El *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, fue obtenido del cepario del banco bacteriológico del laboratorio de la sección de Fisiología y Genética Microbiana, Departamento Académico de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo. (Anexo 3).

#### **PROTOCOLO MICROBIOLÓGICO<sup>16</sup>**

##### **PRUEBA PILOTO**

Para validar la modificación del método, se realizó una prueba piloto con cuatro sistemas (tubos) de ensayo: temperatura ambiente (Sistema Control), 37 °C, 40 °C y 45 °C (Sistemas Problemas) conteniendo el hipoclorito de sodio al 3% con la cepa bacteriana *Enterococcus faecalis*. Después de enfrentar la suspensión bacteriana con el hipoclorito de sodio

por cinco minutos a las temperaturas de ensayo, se harán diluciones seriadas con solución salina fisiológica y posteriormente se sembró 0,1 ml de dilución de cada una de las dos últimas diluciones en placas de agar Müller Hinton, se llevó a secar a estufa de 37°C por 10 minutos e incubó a la misma temperatura por 24 horas.

Finalmente, se realizó el conteo de colonias y se multiplicó por la inversa de la dilución, expresándose la población sobreviviente en UFC/ml en cada uno de los sistemas de ensayo.

**a. Reactivación de la cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.**

En este estudio se utilizó el cultivo liofilizado de la cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

La reactivación se realizó sembrando el cultivo liofilizado en tubo de ensayo con 5 ml de caldo de tioglicolato, se incubó a 37 °C por 24 horas bajo condiciones anaerobias con el fin de obtener colonias jóvenes.

**b. Estandarización del inóculo de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.**

Luego de 24 horas de cultivadas el *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 se le añadió solución salina fisiológica estéril, para tener una turbidez semejante al tubo número 1 del Nefelómetro de Mac Farland.

Los tubos que contenían la bacteria estudiada, fueron girados entre las manos durante 30 segundos, antes de proceder al sembrado, para distribuir los microorganismos adecuadamente.

**c. Prueba de susceptibilidad**

Se colocó en los tubos de ensayo 1 ml de hipoclorito de sodio y 0,8 ml de tioglicolato y fueron sometidos a baño María a las diferentes temperaturas por un lapso de 10 min.

- Grupo 1: solución de hipoclorito de sodio al 3% a 37 °C
- Grupo 2: solución de hipoclorito de sodio al 3% a 40 °C
- Grupo 3: solución de hipoclorito de sodio al 3% a 45 °C
- Grupo 4: solución salina fisiológica (grupo control)

**d. Enfrentamiento microbiológico**

Para lograr alcanzar la estabilidad de las diferentes temperaturas interna del sistema de ensayo se mantuvo previamente por 10 min., y luego se inoculó 0,2 ml de cepa bacteriana en cada sistema de ensayo, e incubó por un lapso de 5 min más en baño María.

Luego, se extrajo 0,5 ml del sistema de ensayo y se vertió en 4,5 ml de solución salina fisiológica estéril, para realizar las microdiluciones seriadas (según anexo 3), y favorecer el conteo de colonias.

Se colocó una décima de ml de la microdilución y se vertió en placas Petri conteniendo agar Müller Hinton, y dispersando de manera homogénea la disolución con la ayuda de la espátula de Driglasky.

**e. Incubación:**

Se llevó las placas Petri a secar por un lapso de 10 min para su fijación, luego se colocó en forma invertida y se situará en la incubadora a 37 °C por el lapso de 24 horas.

**f. Lectura de los resultados:**

Finalmente, transcurrido las 24 horas de incubación se realizó el conteo de colonias, luego se multiplico por la inversa de la dilución, y se expresó la población sobreviviente en UFC/ml en cada uno de los sistemas de ensayo.

#### **4.5. Plan de análisis**

Para el análisis estadístico se realizó con el programa estadístico SPSS v. 22, y Microsoft Excel, considerando el procedimiento que a continuación se indica:

Para la presente investigación, en el análisis de los datos se aplicó la estadística descriptiva e inferencial.

La estadística descriptiva se utilizó para presentar medidas estadísticas como la media, desviación estándar así mismo para la comparación entre dos variables, para datos no normales U de Mann-Whitney

De la estadística inferencial para datos no normales el análisis KRUSKAL WALLIS, y para comparaciones múltiples se hará la prueba llamada test de DUNCAN, con su respectivo nivel de significancia 0.05, para dar respuestas según cada objetivo.

#### 4.6 Matriz de consistencia

<p>¿Cuál es la diferencia entre la efectividad antibacteriana del hipoclorito de sodio al 3% a 37°C, 40°C y 45°C frente al Enterococcus faecalis ATCC 29212?</p>	<p><b>Objetivo general</b></p> <p>Determinar la influencia de la temperatura sobre la actividad antibacteriana de un irrigante endodontico comercializado en la ciudad de Trujillo sobre Enterococcus faecalis ATCC 29212.</p> <p><b>Objetivo específico</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Evaluar la actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio al 3% a 37 °C sobre Enterococcus faecalis ATCC 29212.</li> <li>• Evaluar la actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio al 3% a 40°C sobre Enterococcus faecalis ATCC 29212.</li> <li>• Evaluar la actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio al 3% a 45°C sobre Enterococcus faecalis ATCC 29212.</li> </ul>	<p>El hipoclorito de sodio al 3% a 45 °C presenta un mayor efecto antibacteriano que a 37 °C y 40°C frente al Enterococcus faecalis ATCC 29212.</p>	<p><b>Tipo:</b> Cuantitativo</p> <p><b>Nivel:</b> explicativo</p> <p><b>Diseño:</b> Experimental, analítico, transversal, comparativo y prospectivo.</p>	<p>Universo: Cepas de enterococcus faecalis ATCC 29212</p> <p>Población: 100 ul de alícuota de Cepas de enterococcus faecalis ATCC 29212</p> <p>Muestra: La muestra estuvo conformada por n = 10 repeticiones para cada tratamiento. Con un total de 40 placas Petri</p>
--	---	---	--	--

#### **4.7 Principios éticos**

Al concluir la ejecución del proyecto de investigación in vitro, que se realizó en placas Petri con el cultivo de la cepa *Enterococcus faecalis*, antes de ser eliminados como residuos biocontaminados, estas fueron expuestas a 121°C y 1 Bar de presión en autoclave (método físico de eliminación de microorganismos). La investigación se basó en el código de ética de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote.

También se tomó en cuenta al “MANUAL DE PROCEDIMIENTO PARA MANEJO Y ELIMINACIÓN DE RESIDUOS BIOLÓGICOS” de la Facultad de Ciencias Biológicas” de la Universidad Católica Pontificia de Chile. Que Incluye a: Cultivos y muestras almacenadas: residuos de la producción de material biológico, placas de cultivo y mecanismos para transferir, inocular o mezclar cultivos; residuos de cultivos, incluyendo cultivos de laboratorios médicos y patológicos; y cultivos y cepas de agentes infecciosos de laboratorios.<sup>44</sup>

## V. RESULTADOS

### 5.1 Resultados:

**Tabla 1** *Influencia de la temperatura sobre la actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio al 3% frente al Enterococcus Faecalis ATCC 29212.*

<i>Temperaturas</i>	<i>N</i>	<i>CFU (unidades formadoras de colonias)</i>		<i>Sig. (p)*</i>
		<i>Media</i>	<i>Desviación típica</i>	
Control	10	7856000000	2928000000	0.000
37° C	10	23827700	29280000	
40° C	10	131445	185247.8	
45° C	10	923.4	1478.7	

*Fuente:* Datos propios obtenidos de medición.

*p\*:* prueba KRUSKAL WALLIS, nivel de significancia estadística ( $p < 0.05$ )

### Interpretación:

Comparando el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 3% a 37 °C, 40 °C y 45 °C, frente al *Enterococcus faecalis ATCC 29212*, aplicando la prueba no paramétrica KRUSKAL WALLIS, se obtuvo ( $p = 0.000 < 0.05$ ), de lo cual podemos indicar que si existe una diferencia estadísticamente significativa entre las temperaturas.

**Tabla 2** *Test de Duncan, para la evaluación de la Influencia de la temperatura sobre la actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio al 3% frente al Enterococcus Faecalis ATCC 29212.*

<i>Temperaturas</i>	<i>N</i>	<i>Subconjunto para alfa =0.05 - (Test Duncan)</i>	
		<i>1</i>	<i>2</i>
45° C	10	923.4	
40° C	10	131445	
37° C	10	23827700	
Control			7856000000
<i>Sig.</i>		0.866	1.000

**Interpretación:**

Podemos indicar que, en la prueba de Duncan, se obtuvo dos columnas en donde están los subconjuntos y en las filas las temperaturas a la que fue sometido el hipoclorito de sodio. Se observa que las temperaturas evaluadas, 45°C, 40°C y 37°C, presentan similitud entre sí y son más efectivas que el grupo control.

**Tabla 3** Comparación de la Actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio al 3% entre grupo control y 37 °C, sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

<b>Temperaturas</b>		
	<b>Control</b>	<b>37° C</b>
<b>Media</b>	7856000000	23827700
<b>Desviación Típica</b>	29280000000	29280000
<b>U de Mann-Whitney</b>	0.0	
<b>Sig. (p)*</b>	0.000	

*Nivel de significancia estadística (p<0.05)*

*p\*: prueba U de Mann-Whitney*

### **Interpretación:**

Comparando la actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio al 3% a 37 °C y el grupo control, sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, haciendo uso de la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney, se obtuvo un  $p = 0.000 < 0.05$ , de lo cual podemos indicar que si existe una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control y la temperatura 37 °C

**Tabla 4** Comparación de la Actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio entre grupo control y 40 °C, sobre *Enterococcus faecalis* ATCC29212.

<b>Temperaturas</b>		
	<b>Control</b>	<b>40° C</b>
<b>Media</b>	7856000000	131445
<b>Desviación Típica</b>	29280000000	185247.75
<b>U de Mann-Whitney</b>	0.0	
<b>Sig. (p)*</b>	0.000	

*Nivel de significancia estadística (p<0.05)*  
*p\*: prueba U de Mann-Whitney*

**Interpretación:**

Comparando la actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio al 3% a 40 °C y el grupo control, sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, haciendo uso de la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney, se obtuvo un ( $p = 0.000 < 0.05$ ), de lo cual podemos indicar que si existe una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control y la temperatura de 40 °C.

**Tabla 5** Comparación de la Actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio entre grupo control y 45 °C, sobre *Enterococcus faecalis* ATCC29212

<b>Temperaturas</b>		
	<b>Control</b>	<b>45° C</b>
<b>Media</b>	7856000000	923.40
<b>Desviación Típica</b>	29280000000	1478.74
<b>U de Mann-Whitney</b>	0.0	
<b>Sig. (p)*</b>	0.000	

Nivel de significancia estadística ( $p < 0.05$ )  
 p\*: prueba U de Mann-Whitney

### **Interpretación:**

Comparando la actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio al 3% a 45 °C y el grupo control, sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, haciendo uso de la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney, se obtuvo un ( $p = 0.000 < 0.05$ ), de lo cual podemos indicar que si existe una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control y la temperatura de 45 °C.

## 5.2. Análisis de resultados

En la presente investigación de tipo experimental, *in vitro*, se comparó la influencia de la temperatura en el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 3% a 37 °C, 40 °C y 45 °C, frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Los resultados indicaron que el hipoclorito de sodio al 3% a 45 °C, 40 °C, 37 °C presenta una eficacia antibacteriana similar, aunque el hipoclorito de sodio sometido a 45 °C tuvo un promedio menor de UFC a comparación con las demás.

Los resultados de la presente investigación demostraron que al elevar la temperatura del hipoclorito de sodio al 3% a diferentes grados de temperatura se obtuvieron diversos resultados, es así que al ser sometido a 37 °C se obtuvo un valor de  $2.38 \text{ UFC} \times 10^7$ , a 40 °C  $1.31 \text{ UFC} \times 10^5$ , a 45 °C  $9.23 \text{ UFC} \times 10^2$  y finalmente el grupo control  $7.86 \text{ UFC} \times 10^9$ .

Por lo cual al elevar las temperaturas del hipoclorito de sodio produce un mejor efecto antibacteriano, en comparación con el grupo control.

Esto podría deberse a que el aumento de temperatura tiene efecto positivo sobre la acción disolvente y bactericida del Hipoclorito de Sodio.<sup>41</sup>

Discrepando con Chávez L.<sup>10</sup> quien evaluó el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico *Caesalpinia spinosa* y el hipoclorito de sodio al 5.25 % sobre las cepas *Enterococcus faecalis*, utilizando el método de dilución en tubos, obteniendo como resultado para el hipoclorito de sodio, 2.4 UFC, este reducido espectro antibacteriano se debería a que no estuvo presente la variable temperatura.

Al igual que Guijarro S.<sup>11</sup> quien tras un estudio de investigación sobre el efecto antimicrobiano *in vitro* del hipoclorito de sodio al 2.5 % a 37 °C Y 50 °C de temperaturas, sólo y combinado con agitación frente al *Enterococcus faecalis*,

empleando tubos de ensayo, obteniendo con el hipoclorito de sodio a 37 °C con agitación un mayor resultado de 6.5 UFC comparado con los otros grupos, a diferencia del hipoclorito de sodio al 3 % a 45 °C que obtuvo 923.4 UFC esto se debería al choque molecular contra las paredes de un elemento sólido, logrando así la desintegración de las superficies en un tiempo reducido, es decir un mecanismo de acción de descomposición más eficaz frente a los elementos bacterianos. Con respecto al hipoclorito de sodio sometido a 50 °C de temperatura con y sin agitación, al llevarla a esa temperatura se desestabilizó las propiedades del irrigante declinando su acción antimicrobiana.

Coincidiendo con el trabajo experimental realizado por Pajuelo S.<sup>12</sup> quien evaluó el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 2.5% a cambios de temperatura, a 40 °C, 37 °C y 30 °C obteniendo como resultado que el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio a 40 °C tuvo un mayor efecto antibacteriano con respecto a las unidades formadoras de colonias, esto correspondería a que la temperatura mejora sus propiedades de disolución de agentes orgánicos

Al igual que Carhuayo M.<sup>5</sup> quien obtuvo resultados similares en la influencia de la temperatura, del hipoclorito de sodio ante el *Enterococcus faecalis* donde utilizó el agua ozonizada 20 mg/L y el hipoclorito de sodio al 1 % a la temperatura de 37°C, donde este último al elevar su temperatura, obtiene la habilidad de disolver tejido necrótico y sus propiedades antibacterianas son mejores contra este microorganismo. Contrastando con los resultados obtenidos del hipoclorito de sodio al 3 % sometido a las temperaturas de 45 °C, 40 °C y 37°C tiene un mayor efecto antibacteriano que el grupo control.

## **VI. Conclusiones**

- No existe influencia de la temperatura sobre el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 3% a 45 °C, 40 °C y 37 °C, frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212,
- Al elevar la temperatura el hipoclorito de sodio al 3% a 45 °C mostró un menor conteo de UFC de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, en comparación con el hipoclorito de sodio a 40 °C y 37 °C, siendo estas diferencias no significativas.
- Al comparar la actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio al 3% a 45 °C 40 °C y 37 °C, sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, se comprobó que no hay diferencia significativa en las temperaturas, pero si con el grupo control.

## **ASPECTOS COMPLEMENTARIOS**

- Se recomienda realizar estudios posteriores, para determinar la eficacia antibacteriana del hipoclorito de sodio de uso odontológico exclusivo a diferentes temperaturas frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, realizar estudios sobre tejido dental.
- Se recomienda analizar la toxicidad del hipoclorito de sodio después de someterlo a diferentes temperaturas, ya que es una de sus desventajas para convertirse en el irrigante endodóntico de elección.

## **8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.**

1. Organización Mundial de la Salud. Salud Bucodental. (Internet) [Citado el 10 de Junio del 2018]. Disponible en:  
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs318/es/>
2. Ardila C, Maggiolo S, Dreyer E, Armijo J, Silva N. *Enterococcus faecalis* en dientes con periodontitis apical asintomática. Archivo Médico de Camagüey 2014; [serie en internet]. ISSN 1025-0255. Disponible en:  
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-02552014000400007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552014000400007)
3. Santos E, Salcedo M. Efectividad antibacteriana del gluconato de clorhexidina al 0.12% y el hipoclorito de sodio al 2.5% como soluciones antisépticas del conducto radicular. Tesis. Lima-Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2003. Disponible en:  
<http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/2795>.
4. Alvarez A, Sanchez C, Moreno W, Orozco L. Terapia de conductos en una cita: un estudio clínico. revista de asociación dental Mex. 2003;60(6):207-211
5. Costa S, Gasparini D, Valsecia M. Farmacovigilancia. Reacciones adversas producidas por hipoclorito de sodio utilizado como irrigante en endodoncia. Centro Regional de Farmacovigilancia. Cátedra de Farmacología- Facultad de Medicina – UNNE. Disponible en:  
<http://www.agentia.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/com2004/3-Medicina/M091.pdf>.
6. Leonardo M, Leal J. Endodóncia de tratamiento de los conductos radiculares. Segunda edición. Editorial medica panamericana argentina. 1994. 112-146.
7. Ibarra S. Estudio in vitro del efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Eucaliptus globulus* L. (EUCALIPTO) en comparación al hipoclorito de sodio al

- 2.5% y gluconato de clorehixidina al 2% sobre cepas de *enterococcus feacalis*.”. trabajo de investigación como requisito previo a la obtención del grado académico de odontólogo. Quito-Ecuador. Universidad Central del Ecuador; 2014. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2796/3/T-UCE-0015-84.pdf>
8. Soares I. endodoncia: Técnica y fundamentos. Primera edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina 2002: 127-129
  9. Azuero M, Herrera C, Irrigantes de uso endodontico Pontificia Universidad Javeriana. enero 2006, p. 1-15
  10. Chávez L. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de caesalpina spinosa (taya) en comparación a hipoclorito de sodio al 5.25%, sobre *Enterococcus faecalis*.” Tesis para optar el grado de bachiller en estomatología. Trujillo-Perú. Universidad nacional de Trujillo; 2018. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/11077/PROTEJIDO%20TESIS%20LAURA%20CHAVEZ%20G.%281%29.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
  11. Guijarro S. Inhibición del *Enterococcus faecalis*: análisis in vitro del efecto antimicrobiano del hipoclorito de sodio a diferentes temperaturas, solo y combinado con agitación”. Proyecto de investigación presentado como requisito previo a la obtención del título de odontología. Quito-Ecuador. Universidad Central del Ecuador; 2017. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/10507/1/T-UCE-0015-647.pdf>
  12. Pajuelo S. Efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 2.5% a cambios de temperatura ante el *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 in vitro. Tesis para optar el título profesional de cirujano dentista. Trujillo-Perú: Universidad privada

- Antenor Orrego; 2015. Disponible en:  
[http://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/upaorep/1061/1/PAJUELO\\_SANTOS\\_ANTIBACTERIANO\\_HIPOCLORITO\\_SODIO.pdf](http://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/upaorep/1061/1/PAJUELO_SANTOS_ANTIBACTERIANO_HIPOCLORITO_SODIO.pdf)
13. De Almeida, A., Souza, M., Miyagaki, D., Cecchin, D. & Farina, A. Comparative evaluation of calcium hypochlorite and sodium hypochlorite associated with passive ultrasonic irrigation on antimicrobial activity of a root canal system infected with *Enterococcus faecalis*: an in vitro study. *J Endod.* 2014 Dec; 40(12):1953-7. Disponible en:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25282371>
14. Valera MC, Maekawa L E, Oliveira L, Carvalho CA. In vitro antimicrobial activity of auxiliary chemical substances and natural extracts on *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis* in root canals. *FOB.* [Internet]. 2013 Apr [cited 2016 July 06] ; 21( 2 ): 118-123. Disponible en:  
<http://www.scielo.br/pdf/jaos/v21n2/1678-7757-jaos-21-02-118.pdf>
15. Carhuayo M. Evaluación in vitro de la eficacia antibacteriana de los irrigantes endodonticos hipoclorito de sodio al 1% a temperatura de 37° y agua ozonizada frente a una cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Tesis para optar el grado académico de doctor en estomatología. Trujillo-Perú: Universidad nacional de Trujillo; 2011. Disponible en:  
[http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/7550/Tesis%20Doctorado X%20-%20Miguel%20Carhuayo%20Matta.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/7550/Tesis%20Doctorado%20-%20Miguel%20Carhuayo%20Matta.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
16. Barrantes G. Evaluación in vitro de la eficiencia antibacteriana del hipoclorito de sodio al 1%, 2.5% y 5.25% a diferentes temperaturas frente a cepas de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). Tesis para optar el grado de bachiller en estomatología. Trujillo-Perú. Universidad nacional de Trujillo; 2010. Disponible

en:

[http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/422/BarrantesValdivia\\_G.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/422/BarrantesValdivia_G.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

17. Siqueira J Jr, Rôças I. Community as the unit of pathogenicity: an emerging concept as to the microbial pathogenesis of apical periodontitis. *OOOE* 2009; 107:870-8. Doi:10.1016/j.tripleo.2009.01.044
18. Ronald Ordinola-Zapata, Clovis Monteiro Bramante, David Jaramillo, Marco Antonio Húngaro Duarte, Carlos Olguín Concha. Actualización biofilms y soluciones irrigadoras. disponible en : <https://www.socendochile.cl/upfiles/revistas/30.pdf>
19. Dunavant, T. R., Regan, J. D., Glickman, G. N., Solomon, E. S., & Honeyman, A. L. (2006). Comparative Evaluation of Endodontic Irrigants against *Enterococcus faecalis* Biofilms. *Journal of Endodontics*, 32(6), 527–531. Disponible en : doi:10.1016/j.joen.2005.09.001
20. Pardi G, Guiliarte C. Detección de enterococcus faecalis en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico. *Acta odontol. venez*, mar. 2009, vol.47, no.1, p.110-121. ISSN 0001- 6365. Disponible en: [www.actaodontologica.com](http://www.actaodontologica.com).
21. Stuart, C., Schwartz, S., Beeson, T., & Owatz, C. (2006). *Enterococcus faecalis*: Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Retreatment. *Journal of Endodontics*, 32(2), 93–98. doi:10.1016/j.joen.2005.10.049
22. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative retreatment. *Oral Surg Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; 85: 86-93.

23. Liebana J. Microbiología Oral. 2da Ed. Madrid: McGraw-Hill Interamericana; 2002
24. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. Bergeys manual of determinative bacteriology. 9na Ed. Baltimore: Williams and Wilkins; 1994
25. Siqueira JF, Machado AG, Silveira RM, Lopes HP, De Uzeda M. Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal in vitro. *Int. Endod. J.* 1997; 30: 279-282.
26. Ingle JI; Bakland LK. Endodoncia. 4ta Ed. Mexico: McGraw Hill Interamericana; 1996.
27. Cohen S. Vias de la Pulpa. 7ma Ed. Madrid: Harcourt Brace; 1999.
28. Gomes BPF, Ferraz CCR, Vianna ME, Berber VB. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int. Endod. J.* 2001; 34: 124-128
29. Harrison JW, Wagner GW, Henry CA. Comparison of the antimicrobial effectiveness of regular and fresh scent clirox. *J. Endod.* 1990; 16(7): 328-330
30. Haapasalo M, Endal U, Zandi H, Coil J. Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. *Endodontic Topics.* 2005; 10: 77-102.
31. L. Rodríguez-Varo, J. Pumarola, C. Canalda. Acción antimicrobiana in vitro de distintas medicaciones sobre *Enterococcus faecalis* y *Actinomyces israelii*. *ENDODONCIA*, Volumen 27, Número 1, Enero-Marzo 2009. Disponible en: <http://diposit.ub.edu/dspace/bitstream/2445/65864/1/568396.pdf>
32. Miliani, R, Lobo, K, Morales, OA. Irrigación en endodoncia: Puesta al día. *Acta bioclínica*, 2013, vol. 2, no 4.

33. Basrani E, Cañete, M. Y Blank, A. Endodoncia integrada. Actualidades Médico Odontológica Latinoamérica C.A. 1999
34. Santos A. Efectividad antibacteriana del gluconato de clorhexidina al 0.12% y el hipoclorito de sodio al 2.5% como soluciones antisépticas del conducto radicular, universidad nacional mayor de san marcos. Disponible en:  
[http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/2795/Santos\\_ea.pdf?sequence=1](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/2795/Santos_ea.pdf?sequence=1)
35. Miliani, R, Lobo, K, Morales, OA. Irrigación en endodoncia: Puesta al día. Acta bioclínica, 2013, vol. 2, no 4.
36. Rivas R. limpieza y conformación de conductos, Notas para el estudio de endodoncia. Universidad Nacional Autónoma de México disponible en:  
<http://www.iztacala.unam.mx/~rrivas/limpieza2.html>
37. Al-Hadlaq. (2013). Ultrasonic debridement of root canals: acoustic streaming and its possible role. J Endod.
38. Alfredo E, (2010). Temperature variation at the external root surface during 980-nm diode laser irradiation in the root canal. J Dent.
39. Glossary: American Association of Endodontics. Contemporary terminology for endodontics. 6th ed. Chicago, 1998. Disponible en:  
<https://www.medigraphic.com/pdfs/odon/uo-2012/uo124d.pdf>
40. Ronald Ordinola-Zapata, Clovis Monteiro Bramante, David Jaramillo, Marco Antonio Húngaro Duarte, Carlos Olguín Concha. Actualización biofilms y soluciones irrigadoras. Disponible en:  
<https://www.socendochile.cl/upfiles/revistas/30.pdf>
41. Guevara D. (Colombia, 2014). Efecto De Diferentes Concentraciones De Hipoclorito De Sodio Como Irrigante Endodóntico Sobre Propiedades Físicas De

La Dentina. Una Revisión De La Literatura. Universidad nacional de Colombia tesis para optar el título de especialista en endodoncia. Disponible en:

<http://bdigital.unal.edu.co/46828/1/281732.2014.pdf>

42. Víctor Lahoud Salem<sup>1</sup> y Luis H. Galvéz Galla<sup>2</sup> ' Irrigación endodontica con el uso de hipoclorito de sodio. *Odontol. Sanmarquina* 2006; 9(1): 28-30
43. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la investigación. 5ta ed. México. McGraw Hill Interamericana, c2010. Capítulo 7, concepción o elección del diseño de la investigación. 121-159.
44. Santos EA, Salcedo MD. Efectividad antibacteriana del gluconato de clorhexidina al 0.12% y el hipoclorito de sodio al 2.5% como soluciones antisépticas del conducto radicular. Lima-Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2003. Disponible en <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/2795>.
45. Procedimiento para el manejo de eliminación de residuos biológicos. Universidad católica pontificia de chile. 2013; 1-7 Disponible en: <http://postgrado.bio.uc.cl/wp-content/uploads/2015/06/manejo-y-eliminacionde-residuos-biologicos.pdf>

# ANEXOS

Anexo 1

Ficha de Recolección de Datos.

Fecha:

Hora:

--	--

	INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA EN LA EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL HIPOCLORITO DE SODIO AL 3%			
ENSAYOS	Recuento de unidades formadoras de colonias (UFC/ml) a 24 horas			
	Grupo control	T 37°C	T 40°C	T 45°C
<b>1</b>				
<b>2</b>				
<b>3</b>				
<b>4</b>				
<b>5</b>				
<b>6</b>				
<b>7</b>				
<b>8</b>				
<b>9</b>				
<b>10</b>				

## ANEXO 2

### Ficha de Recolección de Datos de la ejecución

Fecha:

Hora:

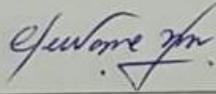
	INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA EN LA EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL HIPOCLORITO DE SODIO AL 3%			
ENSAYOS	Recuento de unidades formadoras de colonias (UFC/ml) a 24 horas			
	Grupo control	T 37°C	T 40°C	T 45°C
<b>1</b>	1840000000	8000000	20000	80
<b>2</b>	2500000000	22000000	300000	100
<b>3</b>	4200000000	58000000	600000	5000
<b>4</b>	5700000000	6000000	70000	300
<b>5</b>	6400000000	4300000	96000	146
<b>6</b>	1980000000	9300000	79000	960
<b>7</b>	2690000000	852000	12300	650
<b>8</b>	4900000000	42100000	32800	860
<b>9</b>	3600000000	725000	6350	986
<b>10</b>	56000000000	87000000	98000	152

ANEXO 3

## CONSTANCIA

Yo, Dr. Luis Alberto Llenque Díaz, Biólogo-Microbiólogo docente de la Escuela de Microbiología y Parasitología, y jefe del laboratorio Fisiología y Genética Microbiana de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo.

Mediante la presente dejo constancia de haber proporcionado la bacteria *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, del banco bacteriológico de la Universidad Nacional de Trujillo, y haber colaborado con la alumna Tirado Tafur Elsa, estudiante de la facultad de odontología de la universidad Católica los Ángeles de Chimbote, identificado con DNI 45336077 y con domicilio en calle Chira 146, en la ejecución de la parte microbiológica planteada en el proyecto de investigación titulado **“INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL HIPOCLORITO DE SODIO AL 3% FRENTE A *ENTEROCOCCUS FAECALIS* ATCC 29212”**



---

Luis Alberto Llenque Díaz

Docente de la Escuela de Microbiología y Parasitología

De la Universidad Nacional de Trujillo

Tabla. Diluciones a sembrar en cada uno de los sistemas de ensayo

Temperatura de ensayo (°C)	Diluciones a sembrar
Control	$10^{-5}$ y $10^{-6}$
37	$10^{-4}$ y $10^{-5}$
40	$10^{-2}$ y $10^{-3}$
45	$10^{-1}$ y $10^{-2}$

## TABLAS

**Tabla 6** Prueba de normalidad, influencia de la temperatura sobre la actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio al 3% frente al *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212. Mediante el recuento de CFU (Unidades formadoras de colonias)

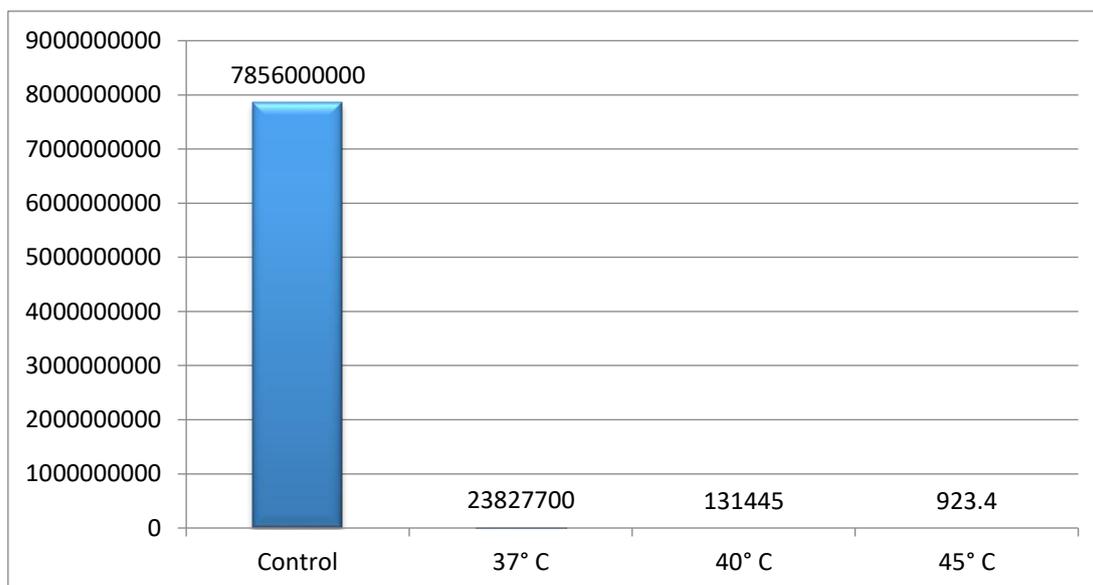
	<b>Temperaturas (C°)</b>			
	<b>Control</b>	<b>37° C</b>	<b>40° C</b>	<b>45° C</b>
1	1840000000	8000000	20000	80
2	2500000000	22000000	300000	100
3	4200000000	58000000	600000	5000
4	5700000000	6000000	70000	300
5	6400000000	4300000	96000	146
6	1980000000	9300000	79000	960
7	2690000000	852000	12300	650
8	4900000000	42100000	32800	860
9	3600000000	725000	6350	986
10	56000000000	87000000	98000	152
<b>Promedio</b>	<b>7856000000</b>	<b>23827700</b>	<b>131445</b>	<b>923.4</b>
<b>p</b>	<b>0.000</b>	<b>0.013</b>	<b>0.001</b>	<b>0.000</b>
<b>Prueba de Normalidad (Shapiro-Wilk)</b>	No Normalidad	No Normalidad	No Normalidad	No Normalidad

**Interpretación:** Al tener menos de 50 datos por cada grupo, es recomendable usar la prueba de normalidad del Shapiro- Wilk, para evaluar la distribución normal de los datos, de donde se puede observar que los datos tienen una significancia menor a 0.05 ( $p < 0.05$ ), es decir datos no presentan una distribución normal.

Con lo cual podemos concluir los datos no presentan una distribución normal, y se hará uso de pruebas no paramétricas para la comparación de los datos.

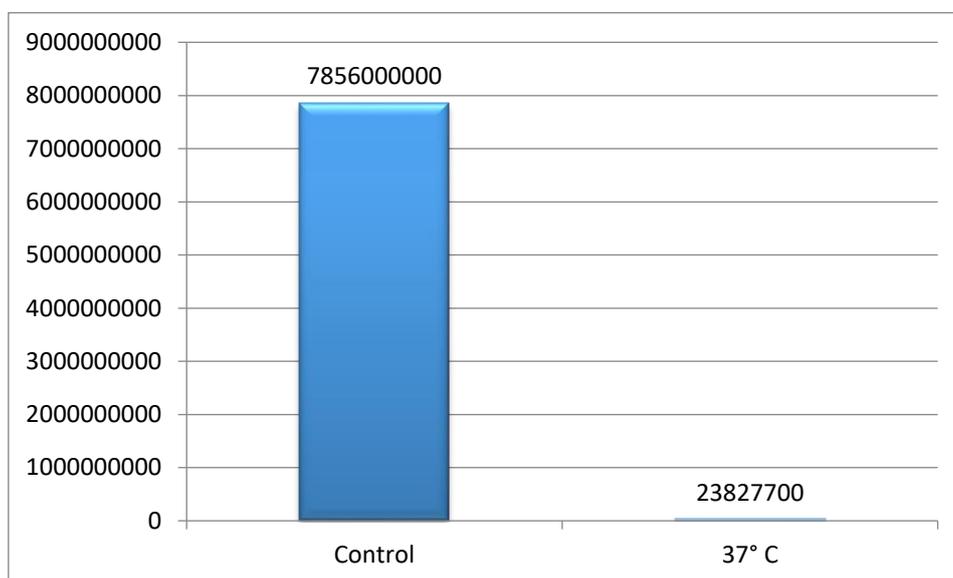
## GRÁFICOS

**Gráfico 1** *Influencia de la temperatura sobre la actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio al 3% frente al Enterococcus Faecalis ATCC 29212.*



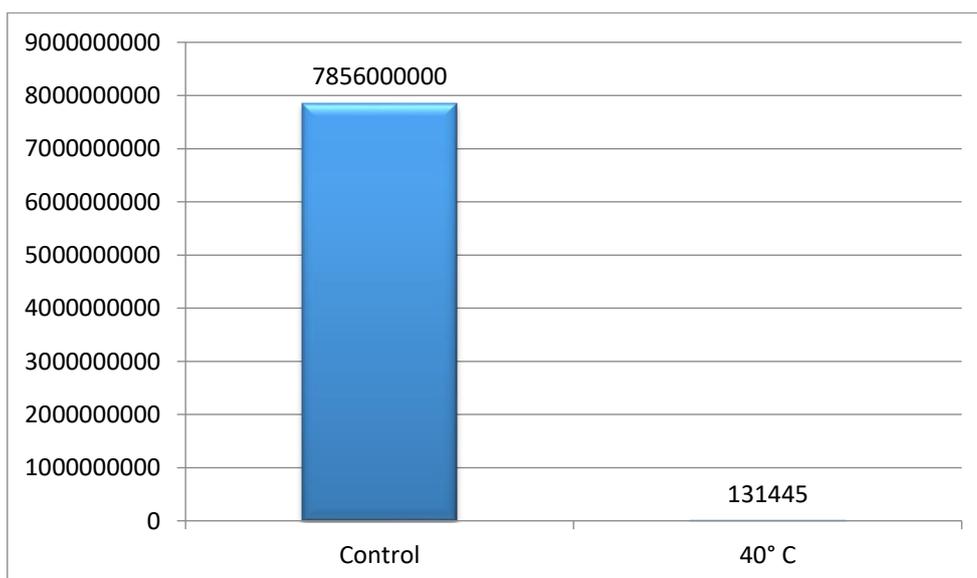
**Fuente:** Datos obtenidos de la tabla N° 01

**Gráfico 2** Actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio entre grupo control y 37 °C, sobre *Enterococcus faecalis* ATCC29212.



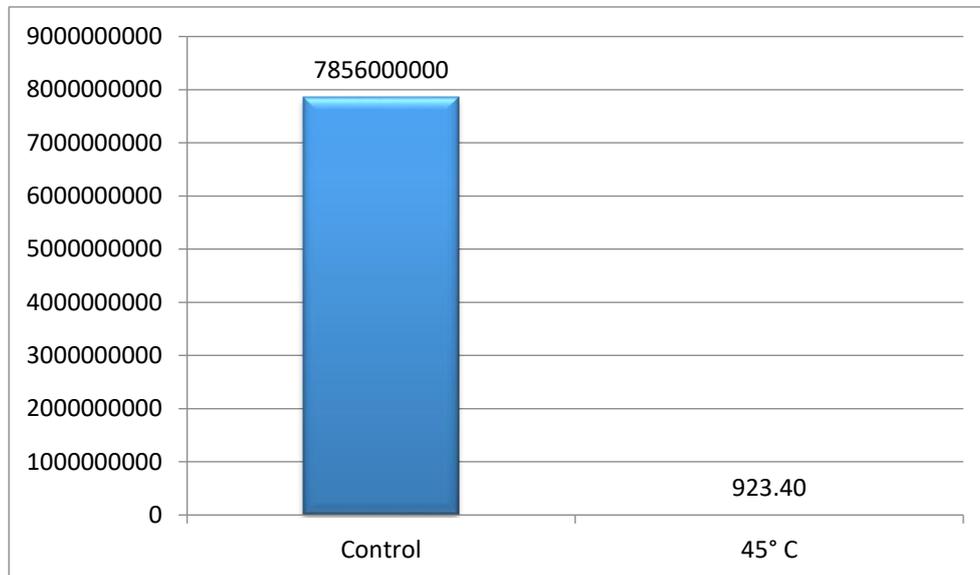
*Fuente:* Datos obtenidos de la tabla N° 03

**Gráfico 3:** Actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio entre grupo control y 40 °C, sobre *Enterococcus faecalis* ATCC29212.



*Fuente:* Datos obtenidos de la tabla N° 04

**Gráfico 4:** Actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio entre grupo control y 45 °C, sobre *Enterococcus faecalis* ATCC29212.



**Fuente:** Datos obtenidos de la tabla N° 05

## PRUEBA DE NORMALIDAD (PRUEBA PILOTO)

**Tabla 7** Prueba de normalidad, influencia de la temperatura sobre la actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio al 3% frente al *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212. Mediante el recuento de CFU (Unidades formadoras de colonias).

	Temperaturas (C°)			
	Control	37° C	40° C	45° C
1	1960000000	8100000	19000	830
2	2670000000	3400000	313000	103
3	3830000000	48000000	53000	510
<b>Promedio</b>	2820000000	19833333	128333	481
<b>p</b>	0.736	0.183	0.202	0.868
<b>Prueba de Normalidad (Shapiro-Wilk)</b>	Normalidad	Normalidad	Normalidad	Normalidad

**Interpretación:** Al tener menos de 50 datos por cada grupo, es recomendable usar la prueba de normalidad del Shapiro- Wilk, para evaluar la distribución normal de los datos, de donde se puede observar que los datos tienen una significancia mayor a 0.05 ( $p > 0.05$ ), es decir los datos presentan una distribución normal.

Con lo cual podemos concluir que los datos siguen una distribución normal, y se hará uso de pruebas paramétricas para la comparación de los datos.

## FOTOGRAFÍAS DEL PRODUCTO EXPERIMENTAL

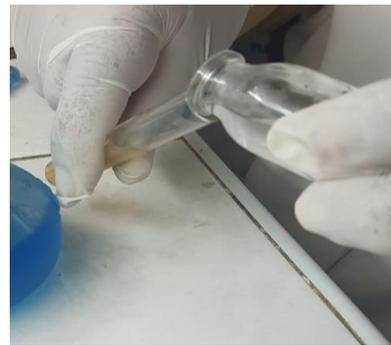
Cepa *Enterococcus faecalis* ATCC 29212



Reactivación de cepa *Enterococcus faecalis* ATCC 29212



Desprendimiento de la bacteria



Mezcla del suero fisiológico con la bacteria *E. faecalis*.

Estandarización del  
Inoculo



Tubo N° 1 del Nefelómetro de Mac Farland

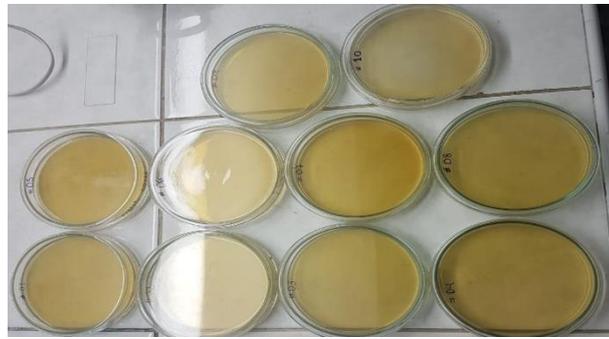
Preparación de las placas Petri.



Agar Müller Hilton



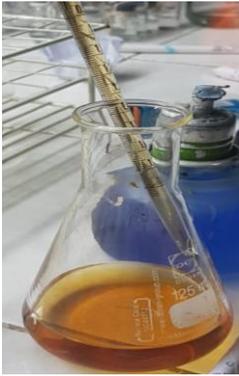
Se colocó el agar Müller Hinton en las placas Petri estériles.



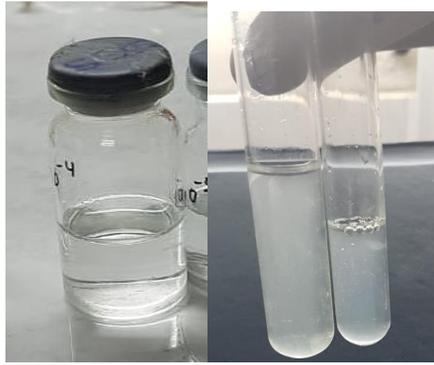
Exposición a baño María del hipoclorito de sodio a 37 °C, 40 °C Y 45 °C por 5 min.



Enfrentamiento microbiológico



0.8 ml de agar



1 ml de suero fisiológico

0.2 ml inculo

1 ml de hipoclorito de sodio al 3% a 37 ° C

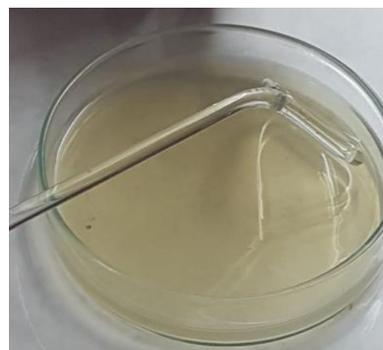
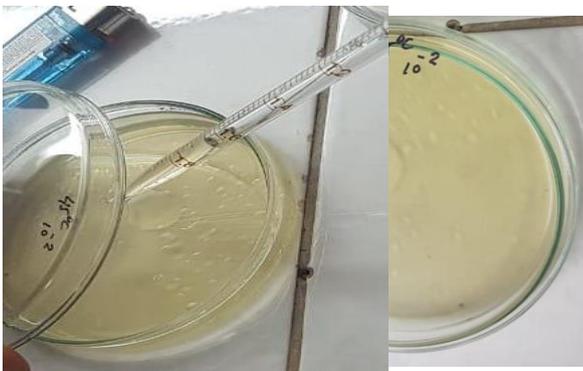
1 ml de hipoclorito de sodio al 3% a 40 ° C

1 ml de hipoclorito de sodio al 3% a 45 ° C



Microdiluciones del cultivo.

Sembrado de 0,1 ml de cultivo





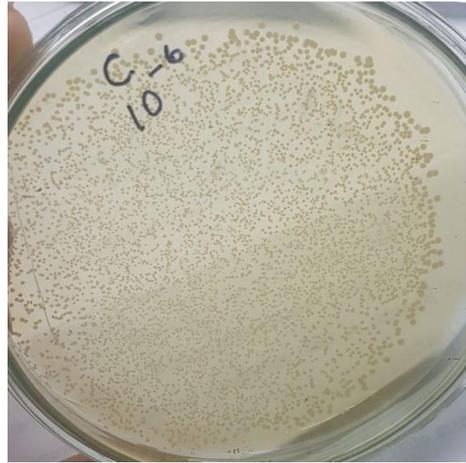
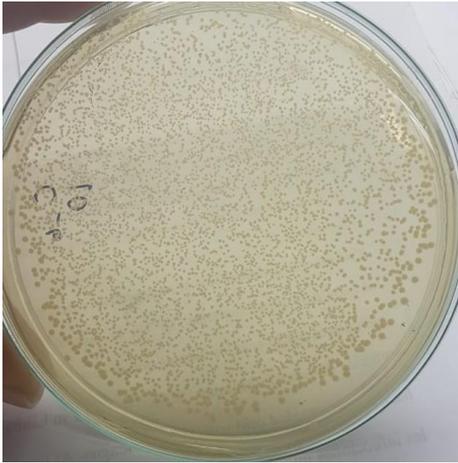
Se llevo a la estufa por 10 min, para que se fije el cultivo



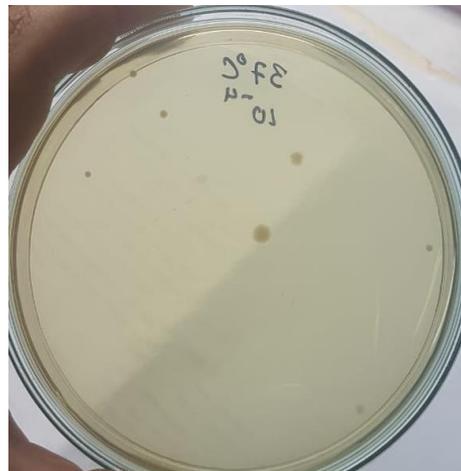
Se incubo las placas en forma invertida a 37 °C por 24 horas.

Lectura de resultados

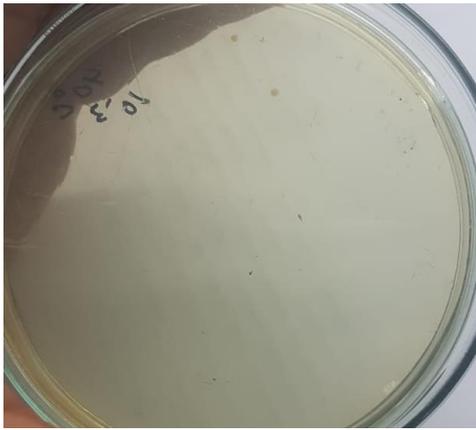
Grupo control suero fisiológico



Grupo hipoclorito de sodio al 3 % a 37 °C



Grupo hipoclorito de sodio al 3 % a 40 °C



Grupo hipoclorito de sodio al 3 % a 45°C

