

**UNIVERSIDAD PRIVADA DE TACNA**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA DE PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**

---



**“ESTUDIO COMPARATIVO IN VITRO SOBRE EL EFECTO INHIBITORIO  
DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE *Caesalpinia spinosa* (TARA)  
al 10%, 20%, 40% y 60% , EL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2%  
Y EL HIPOCLORITO DE SODIO AL 5%; A LAS 24 y 48 HORAS,  
SOBRE EL *Enterococcus faecalis* ATCC 29212”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**CIRUJANO DENTISTA**

Autor: Bach. Raquel Cornejo Huanacune

Asesor: Mg. Esp. Santos Pinto Tejada

Coasesor: Dr. César Cáceda Quiroz

Tacna – Perú

2016

## **DEDICATORIA**

*En primer lugar a Dios, quien es el que guía nuestro sendero para ir siempre por el  
buen camino,*

*A mis padres Jacinto y Haydeé,*

*por brindarme su amor y apoyo incondicional a la largo de esta carrera,*

*A mi abuelo Carlos,*

*por guiar mi camino desde el cielo y aunque ya no está estoy segura que comparte  
esta felicidad hoy conmigo.*

*A mis hermanos Nano y Cesar,*

*por haber estado conmigo siempre.*

## **AGRADECIMIENTOS**

*A mi asesor el Mgr. Esp. Santos Pinto Tejada,  
por brindarme su amistad y orientación para el logro de esta tesis.*

*A mi coasesor el Dr. César Cáceda Quiroz,  
por sus aportes para la ejecución de esta tesis.*

*Al Prof. Alfredo Quispe, quien me brindo su apoyo para la elaboración del extracto  
alcohólico de *Caesalpinia spinosa*, en la Facultad de Ciencias de la UNJBG  
a mis profesores que supieron compartir sus valiosos conocimientos a lo largo de  
este tiempo; y a todas las personas que de una u otra forma estuvieron apoyando  
para llevar a cabo mi sueño académico.*

*Gracias a todos*

## ÍNDICE

<b>RESUMEN.....</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>2</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>3</b>
<b>CAPÍTULO I EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>4</b>
1.1 Fundamentación del Problema.....	4
1.2 Formulación del Problema.....	5
1.3 Objetivos de la Investigación.....	6
1.3.1. Objetivo General.....	6
1.3.2. Objetivos Específicos.....	6
1.4 Justificación.....	7
1.5 Definición de términos.....	9
<b>CAPÍTULO II REVISIÓN BIBLIOGRAFICA.....</b>	<b>12</b>
2.1 Antecedentes de la investigación.....	12
2.2 Marco teórico.....	16
2.2.1 <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara).....	16
2.2.2 Gluconato de clorhexidina.....	24
2.2.3 Hipoclorito de sodio.....	26
2.2.4 Enterococcus.....	30
2.2.5 Microbiota endodóntica.....	37

2.2.6 Irrigantes.....	46
<b>CAPÍTULO III HIPÓTESIS, VARIABLES Y DEFINICIONES OPERACIONALES.....</b>	<b>50</b>
3.1 Hipótesis.....	50
3.2 Operacionalización de las variables.....	51
<b>CAPÍTULO IV METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>52</b>
4.1 Diseño.....	52
4.2 Ámbito de estudio.....	52
4.3 Población y muestra.....	52
4.3.1 Criterios de Inclusión.....	53
4.3.2 Criterios de Exclusión.....	53
4.2 Instrumentos de Recolección de datos.....	53
<b>CAPÍTULO V PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS.....</b>	<b>55</b>
5. Resultados.....	59
<b>CAPÍTULO VI DISCUSIÓN.....</b>	<b>80</b>
<b>CAPÍTULO VII CONCLUSIONES.....</b>	<b>83</b>
<b>CAPÍTULO VIII RECOMENDACIONES.....</b>	<b>84</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>85</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>90</b>

## RESUMEN

El objetivo del estudio es comparar el efecto inhibitorio in vitro del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 10%, 20%, 40% y 60%, el gluconato de clorhexidina al 2% y el hipoclorito de sodio al 5%; a las 24 y 48 horas, sobre el *Enterococcus faecalis* ATCC 29212; y así considerar a la *Caesalpinia spinosa* como una nueva alternativa terapéutica al momento de emplear soluciones irrigantes o como medicamento intraconducto y evitar efectos adversos que otras sustancias químicas pudiesen producir, también reducir el costo tanto para el paciente como para el profesional; y sobretodo evitar que el *Enterococcus faecalis* colonice y desarrolle enfermedades periapicales, conllevando a un fracaso endodóntico en dientes ya tratados endodónticamente. Así mismo este estudio se enfoca en conseguir un irrigante que brinde seguridad de desinfección, acción rápida y resistida, de fácil disponibilidad y uso; para realizar un tratamiento exitoso en un tiempo adecuado. En el estudio después de obtener el extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) se prepararon concentraciones de 10%, 20%, 40% y 60% donde se determinó su efecto inhibitorio in vitro a las 24 y 48 horas, sobre el *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

En conclusión el extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 10%, 20%, 40% y 60%, presentó menor, igual y mayor efecto inhibitorio in vitro sobre el *E. faecalis* a las 24 y 48 horas de su aplicación, comparado con el gluconato de clorhexidina al 2% y presentó un mayor efecto inhibitorio comparado con el hipoclorito de sodio al 5%.

## ABSTRACT

The aim of the study is to compare the inhibitory effect in vitro of the alcoholic extract of *Caesalpinia spinosa* (tara) 10%, 20%, 40% and 60% chlorhexidine gluconate 2% sodium hypochlorite 5%; at 24 and 48 hours on *Enterococcus faecalis* ATCC 29212; and thus consider the *Caesalpinia spinosa* as a new therapeutic alternative when used as intracanal irrigating solutions or medication and avoid adverse effects that could produce other chemicals also reduce the cost for both the patient and the professional; and above all prevent *Enterococcus faecalis* colonize and develop periapical diseases, leading to an endodontic failure and endodontically treated teeth. Also this study focuses on getting irrigant that provides security disinfection and resisted rapid action, easy availability and use; for successful treatment in proper time. In the study after obtaining the alcoholic extract of *Caesalpinia spinosa* (Tara) concentrations of 10%, 20%, 40% and 60% where its inhibitory effect was determined in vitro at 24 and 48 hours on *Enterococcus faecalis* ATCC they were prepared 29212.

In conclusion, the alcoholic extract of *Caesalpinia spinosa* (Tara) 10%, 20%, 40% and 60%, showed a lower, equal and greater in vitro inhibitory effect on *E. faecalis* at 24 and 48 hours of application, compared with chlorhexidine gluconate 2% and presented a greater inhibitory effect compared with sodium hypochlorite 5%.

## INTRODUCCIN

Un correcto tratamiento endodntico depende de varios factores que se relacionan entre s y que incluyen el acceso, la preparacin y la obturacin radicular; aunque estos factores no son suficientes para lograr el xito; deben ser complementados con la irrigacin, la medicacin intraconducto, si el caso lo requiere y un buen sellado coronario definitivo mediante una adecuada rehabilitacin de la pieza dentaria con la finalidad de restituir su funcin. Es importante tener en cuenta que la accin mecnica de los instrumentos por s sola no es capaz de promover la limpieza correcta debido a la complejidad de la anatoma dental interna la cual genera dificultades al profesional para lograr el total debridamiento del contenido del conducto.

Los instrumentos rotatorios actan slo a nivel central del conducto, dejando aletas e istmos y el 35% al 40% de las paredes del conducto radicular sin tocar despus de la completa preparacin mecnica, estas reas pueden albergar detritus, bacterias organizadas en biofilms y sus productos de desecho. (1)

Por tal razn, se ve obligado a utilizar sustancias irrigantes que le permitan llegar a estas zonas con el fin de obtener una mejor desinfeccin del conducto radicular. Para incrementar la accin que ejercen los instrumentos durante la terapia endodntica, se han utilizado diversas soluciones de irrigacin, tales como, hipoclorito de sodio, clorhexidina, quelantes, agua oxigenada, enzimas, antimicrobianos, solucin salina, suero, anestesia, etc. (2) No hay duda de que los microorganismos, ya sean remanentes en el conducto radicular despus del tratamiento o recolonizados en el conducto obturado, son la principal causa de los fracasos endodnticos.

Uno de estos microorganismos que est relacionado con esta infeccin del conducto debido a su capacidad de supervivencia luego de la terapia endodntica es el *Enterococcus faecalis*, especie encontrada en mayor prevalencia en el 90% de casos en dientes endodonciados relacionados con el fracaso del tratamiento.(3)



## CAPITULO I EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### 1.1 Fundamentación del Problema

El éxito en Endodoncia depende de varios factores, entre ellos; el biomecánico que se encuentra relacionado con el acceso, la preparación y la obturación radicular, sin embargo dichos pasos no son suficientes para conseguir un tratamiento endodóntico exitoso, debido a que debe de ser complementado con una irrigación adecuada, medicaciones intraconducto, sellado tridimensional del conducto y un sellado coronal hermético; evitando así posibles micro filtraciones, contaminación, fracaso de la endodoncia y fracaso de la rehabilitación integral de la pieza dentaria. (4)

Por esto, es necesario hacer mucho hincapié en la irrigación, la cual es base para un tratamiento endodóntico exitoso debido a que tiene por objetivo principal disminuir la carga bacteriana presente en el conducto radicular, ya que si no se emplea un adecuado irrigante existe la posibilidad de persistencia bacteriana y esta sea causa del fracaso endodóntico. (5)

Esta carga bacteriana está conformada por el *Enterococcus faecalis*; ya que evidencias científicas de los últimos cinco años indican que el E. faecalis y *Actinomyces israelii* se encuentran presentes en un gran porcentaje en los fracasos endodónticos. La especie E. faecalis es más común en dientes con periodontitis apical crónica persistente en un 38%. El 60% de 20 dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico se detectó E. faecalis, por lo cual se corroboró la prevalencia del microorganismo. (6)

El *Enterococcus faecalis* posee características de supervivencia tras enfrentarse a condiciones que para muchas bacterias normalmente serían letales, el E. faecalis posee la capacidad de sobrevivir y crecer en temperaturas altas resistir a cambios de pH persistiendo a la acción de diversos irrigantes y medicación intraconducto empleados para la desinfección del conducto radicular. (7)

Por lo tanto, para obtener un tratamiento exitoso y sin complicaciones; el presente trabajo se enfoca en comparar el efecto inhibitorio in vitro del gluconato de clorhexidina al 2% y el hipoclorito de sodio al 5%; a las 24 y 48 horas, ya que son los medicamentos habituales que se utilizan para realizar una endodoncia; a esto se le añade el estudio del extracto alcohólico *Caesalpinia spinosa* (tara) porque hay estudios que demuestran sus propiedades antibacterianas sobre el *Enterococcus faecalis*, debido a que dicha bacteria como se ha demostrado se encuentra en la mayoría de dientes con fracaso de tratamiento endodóntico.

Dicho esto es necesario identificar y establecer si dichas soluciones pueden ser antibacterianas al momento de preparar y limpiar el conducto radicular, para que de esta forma nos ayude en gran mayoría a prevenir un fracaso en el tratamiento de conducto. Y de igual manera encontrar una alternativa a las soluciones irrigantes químicas usadas hoy en día, debido a que no existe un irrigante nuevo en el mercado odontológico que sea una alternativa al uso de los irrigantes frecuentemente usados como lo son el hipoclorito de sodio, clorhexidina, etc.

## 1.2 Formulación del Problema:

¿Cuál será el efecto inhibitorio in vitro del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 10%, 20%, 40% y 60% en comparación con el gluconato de clorhexidina al 2% y el hipoclorito de sodio al 5%; a las 24 y 48 horas, sobre el *Enterococcus faecalis* ATCC 29212?

### 1.3 Objetivos de la Investigación

#### 1.3.1. Objetivo General

Comparar el efecto inhibitorio in vitro del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 10%, 20%,40% y 60%, el gluconato de clorhexidina al 2% y el hipoclorito de sodio al 5%; a las 24 y 48 horas, sobre el *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

#### 1.3.2. Objetivos Específicos

-Determinar el efecto inhibitorio in vitro del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 10%, 20%,40% y 60%; a las 24 y 48 horas sobre el *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, mediante halos de inhibición.

-Comparar el efecto inhibitorio in vitro del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 10%, 20%,40% y 60% con el Gluconato de clorhexidina al 2%; a las 24 y 48 horas sobre el *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, mediante halos de inhibición.

-Comparar el efecto inhibitorio in vitro del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 10%, 20%,40% y 60% con el Hipoclorito de sodio al 5%; a las 24 y 48 horas sobre el *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, mediante halos de inhibición.

#### 1.4 Justificación

De acuerdo con la Asociación Americana de Endodoncistas; “Lo que se saca de un tratamiento de conducto puede ser más importante que lo que se coloca”. Por lo tanto, un correcto diagnóstico sumado a una buena biopreparación no va a garantizar una reducción de la carga bacteriana, ya que el vaciamiento y ensanchamiento del conducto y una medicación intraconducto por si solas no va a mitigar dicha carga bacteriana; debido a esto, es necesario emplear un irrigante adecuado, el cual nos asegure una reducción microbiana y de esta manera conseguir una terapia endodóntica exitosa y por ende no llevarnos a un fracaso seguro. (8)

La persistencia de la infección es la causa principal del fracaso de conductos obturados pues los microorganismos pueden permanecer dentro de los túbulos dentinarios, en lagunas del cemento radicular, en las foraminas apicales y en las lesiones periapicales. Incluso en muchas lesiones patológicas periapicales un gran número de microorganismos persisten a pesar de haber recibido medicación intraconducto. (4)

Uno de estos microorganismos es el *Enterococcus faecalis* ya que en diversos estudios ha sido relacionado con los fracasos endodónticos y de igual manera es la especie encontrada con mayor frecuencia en los conductos de dientes ya tratados, con prevalencias que rondan el 90% de los casos. (9)

Entonces está demostrado que dicha bacteria tiene capacidad para sobrevivir y crecer en microambientes que pudieran ser tóxicos para muchas bacterias. Este hecho demuestra que dicha bacteria es capaz de resistir luego de realizado un tratamiento de conducto, como también puede permanecer ahí desde el inicio del tratamiento y prevalecer gracias a su capacidad de sobrevivencia en relación con otras bacterias.

Este trabajo de investigación tiene como objetivo comparar el efecto inhibitorio in vitro del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 10%, 20%, 40% y 60%, el gluconato de clorhexidina al 2% y el hipoclorito de sodio al 5%; a las 24 y 48 horas, sobre el *Enterococcus faecalis* ATCC

29212, debido a que diversos estudios han demostrado que la *Caesalpinia spinosa* ofrece propiedades antibacterianas, de la cual se podría obtener un gran beneficio y así considerarla una nueva alternativa terapéutica al momento de emplear soluciones irrigantes o como medicamento intraconducto y evitar efectos adversos que otras sustancias químicas pudiesen producir, también reducir el costo tanto para el paciente como para el profesional; y sobretodo evitar que el *Enterococcus faecalis* colonice y desarrolle enfermedades periapicales, conllevando a un fracaso endodóntico en dientes ya tratados endodónticamente. Así mismo este estudio se enfoca en conseguir un irrigante que brinde seguridad de desinfección, acción rápida y resistida, de fácil disponibilidad y uso; para realizar un tratamiento exitoso en un tiempo adecuado.

## 1.5 Definición de términos

### A.- Hipoclorito de sodio 5%:

Líquido claro, pálido, verde-amarillento, extremadamente alcalino y con fuerte olor clorino, que presenta una acción disolvente sobre el tejido necrótico y restos orgánicos y además es un potente agente antimicrobiano. En odontología es el más recomendado y se utiliza para lavar los conductos radiculares durante el tratamiento del canal radicular. Al NaOCl se le han atribuido varias propiedades beneficiosas durante la terapia endodóntica: Desbridamiento, la irrigación con NaOCl expulsa los detritos generados por la preparación biomecánica de los conductos. Lubricación, humedece las paredes del conducto radicular favoreciendo la acción de los instrumentos. Destrucción de microorganismos, se ha demostrado que esta solución es un agente antimicrobiano muy eficaz, puede eliminar todos los microorganismos de los conductos radiculares, incluyendo virus y bacterias que se forman por esporas. Disolución de tejidos, es el disolvente más eficaz del tejido pulpar. El hipoclorito reacciona con residuos orgánicos en el conducto radicular y de esta forma facilita la limpieza. Baja tensión superficial, gracias a esta propiedad penetra a todas las concavidades del conducto radicular. (6)

### B.- Gluconato de clorhexidina 2%:

La clorhexidina ha sido reconocida como un efectivo agente antimicrobiano oral utilizado en la terapia periodontal, prevención de caries y como agente terapéutico en las infecciones orales en general. Del mismo modo se señala el potencial de la clorhexidina cuando es utilizada como solución de irrigación y/o medicamento entre sesiones en la terapéutica endodóntica, tomando ventaja de su poder antimicrobiano. (8)

C.- Extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) :

Extracto cuyo solvente es el alcohol y que contiene los principios activos de la planta *Caesalpinia spinosa* preparado a las concentraciones de 10%, 20%, 40% y 60%.

D.- Halo de inhibición:

Halos que se forman alrededor de un antibiótico mediante métodos in vitro que determinan la susceptibilidad de los microorganismos a una variedad de agentes microbianos, bajo condiciones de laboratorio específicas estandarizadas. (46)

E.- Efecto inhibitorio in vitro: Capacidad para detener la reproducción o muerte de una bacteria. Se determinará cualitativamente según la escala de Duraffourd y cuantitativamente según CIM

La evaluación se realizó tanto cuantitativamente por medición numérica de los halos de inhibición, y cualitativamente siguiendo las pautas por Duraffourd. (10)

Para demostrar la susceptibilidad que tienen los microorganismos a diversos aceites esenciales Duraffourd realizó estudios estadísticos determinando tablas de actividad antimicrobiana basada en porcentajes. : (10)

- Nula (-), para un diámetro inferior a 8 mm.
- Sensibilidad límite (sensible = +) para un diámetro comprendido entre 8 a 14 mm.
- Medio (muy sensible =++) para un diámetro entre 14 y 20 mm.
- Finalmente para un diámetro superior a 20 mm el microorganismo es sumamente sensible (+++)

F.- Concentración inhibitoria mínima: Concentración mínima de una sustancia que impide el crecimiento bacteriano in vitro. Se considera CIM aquella en la que se presenta un crecimiento < de 30 UFC

G.- Análisis fitoquímico: Análisis cualitativo que se realiza a los extractos de plantas naturales para identificar los compuestos (por ej.: Alcaloides, Taninos, Flavonoides, Quinonas, etc.) que contiene dicho extracto.



## CAPITULO II REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Antecedentes de la investigación

Estudio in vitro de la eficacia antibacteriana entre el extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 100% e hipoclorito de sodio al 5,25% sobre el *Enterococcus faecalis*, Adriana Haro Valencia, Ecuador, 2015. Se realizó un estudio in vitro de la eficacia antibacteriana entre el extracto alcohólico de Tara 100% e hipoclorito de sodio 5% sobre el E. faecalis. Embebiendo semidiscos con 50uL de cada solución y colocándolos en medios de cultivo Mueller Hilton previamente preparados con colonias jóvenes de E. faecalis, incubando las muestras a 37°C de 24 a 72 horas. Resultados obtenidos en halos inhibitorios demostraron que ambas soluciones fueron capaces de producir inhibición del crecimiento bacteriano; siendo durante las primeras 24 horas el NaOCl 5,25% más efectivo en comparación con el extracto de Tara 100%. Adicional a esto, se investigó el efecto de sustentividad de las soluciones en el transcurso de 48 y 72 h; encontrando que el extracto de Tara 100% posee un efecto antimicrobiano mayor y prolongado en contraste con el NaOCl 5,25%, el cual presentó un efecto antibacteriano menor. (3)

Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* taya sobre cepas *Enterococcus faecalis* atcc 29212”, Cintya Liset Flores Armas, Perú, 2011. El objetivo del presente estudio de tipo experimental fue determinar el efecto inhibitor in vitro del extracto etanólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Taya) frente a cepas de *Enterococcus faecalis*. Se realizó la prueba de susceptibilidad, utilizando el método de difusión en discos. Las cepas de E. faecalis fueron sembradas en placas que contenían medio de cultivo Müller Hinton, se colocaron discos con las diferentes concentraciones del extracto etanólico de Taya. Las placas se incubaron a 37° C midiéndose los halos con una regla vernier después de 24 horas; todos los discos presentaron halo de inhibición, y los tamaños de estos aumentaron en relación directamente proporcional a las concentraciones utilizadas. Se

empleó también el Método de dilución en tubos, ensayando concentraciones de 60%, 40%, 20% y 10% del extracto etanólico de vainas de *C. spinosa*; a los cuales se le agregó el inóculo de *E. faecalis*. Se llevo a estufa a 37°C por 24 horas, luego se sembró en placas con Agar Müeller Hinton para determinar las Unidades Formadoras de Colonias (UFC). Después de 48 horas se realizó el conteo de UFC. Todas las concentraciones presentaron efecto inhibitorio del crecimiento de *E. faecalis*. La concentración mínima inhibitoria hallada fue la del 40 %. Se concluye que el extracto etanólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* “taya” posee actividad inhibitoria in vitro sobre el crecimiento de cepas de *Enterococcus faecalis*. (12)

Efecto antibacteriano de *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre flora salival mixta, Mariella Huarino Acho, Perú, 2011. El objetivo del estudio fue determinar el efecto antibacteriano in vitro de diferentes concentraciones del extracto alcohólico de la *Caesalpinia spinosa* “tara” (EACS); mediante el método de difusión en placa se usó la flora mixta salival, para enfrentarlas a las soluciones de 6,25, 12,5, 25, 50 y 75 mg/mL del EACS y compararlas con los controles positivo Clorhexidina 0.12 % y Alcohol 70°. Se determinó que el efecto antibacteriano del EACS sobre flora mixta salival muestra una mayor actividad directamente proporcional a su concentración. El análisis estadístico mediante la prueba de Kruskal- Wallis determinó que existen diferencias significativas a nivel de 0.000 entre las diferentes concentraciones del EACS; mediante la prueba de Mann – Whitney, existen diferencias significativa a nivel de 0.000 entre el EACS y el control positivo Clorhexidina al 0,12 % y Alcohol 70°. Por otro lado el análisis de EACS mediante el tamizaje fitoquímico demostró alta presencia de taninos, flavonoides, esteroides, triterpenos y saponinas. De los resultados obtenidos se concluye que se ha evidenciado el efecto antibacteriano sobre la flora mixta salival. (10)

Efecto in vitro de la Solución de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 60%, e hidróxido de calcio y gluconato de clorexhidina al 2% en el halo inhibitorio microbiano de *Enterococcus faecalis*, Juan Bornaz Acosta; Vanessa Bornaz Arenas y cols., Perú 2014. La presente investigación tuvo como objetivo determinar el halo inhibitorio de la *Caesalpinia spinosa* (Tara), de Hidróxido de Calcio y de Gluconato de clorhexidina al 2% sobre la cepa de *Enterococcus faecalis*, bacteria bastante conocida por provocar elevado porcentaje de fracasos en endodoncia. El procedimiento consistió en sembrar la cepa *Enterococcus faecalis* en 16 placas con Agar Cerebro Corazón, las cuales fueron divididas en 3 unidades por placa, evaluándose así 48 unidades de estudio, 24 unidades para el grupo experimental 1 (*Caesalpinia spinosa* al 60%) y 24 para el grupo experimental 2 (Hidróxido de Calcio y Gluconato de clorhexidina al 2%). Se adicionaron 4 placas petri, 3 para el control positivo (Amoxicilina – Acido clavulánico) y 1 placa Petri para el control negativo (Suero fisiológico). Se colocaron semidiscos embebidos con la solución de *Caesalpinia spinosa* y se hizo pozos de 5mm para el hidróxido de calcio y clorhexidina al 2%, posteriormente las placas fueron incubadas en cámara de anaerobiosis a una temperatura de 37°C, tomándose medidas de halo inhibitorio expresado en milímetros a las 24, 48, 72 horas y 7 días. Los resultados obtenidos fueron sistematizados, luego se aplicó el Estadístico T de Student ( $p < 0,05$ ) indicando que el promedio del halo inhibitorio formado por la *Caesalpinia spinosa* fue mayor que el halo inhibitorio formado por el Hidróxido de Calcio, había diferencia estadísticamente significativa entre los datos obtenidos entre ambos grupos experimentales. En conclusión, la *Caesalpinia spinosa* demostró tener efecto antimicrobiano frente a la presencia de *Enterococcus faecalis*, formando halos de diferentes diámetros en las 4 tomas de medidas que se realizó en este estudio. (13)

Estudio in vitro del efecto antimicrobiano del aceite esencial de eucalyptus globulus (eucalipto) en comparación al hipoclorito de sodio al 2,5% y gluconato de clorhexidina al 2%, sobre cepas de *Enterococcus faecalis*, Sandra Paulina Ibarra Chérrez, Ecuador, 2014. Los Aceites esenciales a base de plantas medicinales es una opción eficaz para el tratamiento de múltiples enfermedades y

de fácil acceso para la población, por tal motivo el objetivo de esta investigación fue determinar el efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* L. (Eucalipto) en comparación al Hipoclorito de Sodio al 2,5 % y Gluconato de Clorhexidina al 2% frente a cepas de *Enterococcus faecalis*, Se elaboró el aceite esencial a diferentes concentraciones, (25%, 50% ,75% y 100%); mediante arrastre de vapor de agua posteriormente se reactivó a las bacterias para luego ser sembrados en 15 placas petri que contenían el medio de cultivo Mueller Hinton, con pozos de 6 mm. de diámetro; luego vertimos *Eucalyptus globulus* L (Eucalipto), hipoclorito de sodio al 2,5%, Gluconato de Clorhexidina al 2% como control positivo y como control negativo tween 80%. Se incubaron a 37°C. A las 24 y 48 horas se realizó la medición de los halos de inhibición con un calibrador vernier o regla pie de rey. Para realizar el análisis de los resultados se utilizaron las pruebas de ANOVA y Bonferroni los que mostraron que a mayor concentración del aceite esencial hay mayor eficacia inhibitoria sobre cepas de *Enterococcus faecalis*, seguida del hipoclorito de sodio y gluconato de clorhexidina. (14)

Efectividad de tres irrigantes sobre el número de colonias de *Enterococcus faecalis* en la preparación de conductos radiculares in vitro, Jorge Alamo-Palomino y cols. Perú, 2015. El estudio tiene como objetivo. Determinar la efectividad de tres irrigantes sobre el número de colonias de *E. faecalis* en la preparación de conductos radiculares. Materiales y métodos. Estudio experimental, in vitro. Se prepararon 60 raíces distales de primeros molares, inferiores, extraídos con un solo conducto, en los cuales se cultivó *E. faecalis*, luego se procedió a la preparación y uso de los diferentes irrigantes en los conductos radiculares. Resultados. Se estableció que los tres irrigantes usados: hipoclorito de sodio casero 4% ( $p= 0,876 > 0,05$ ); hipoclorito de sodio comercial 2,5% ( $p= 0,531 > 0,05$ ), y gluconato de clorhexidina 2% ( $p = 0,023 < 0,05$ ) fueron efectivos en la desinfección de los conductos en un 100%. Conclusiones. El hipoclorito de sodio en diferentes concentraciones es efectivo frente al *E. faecalis*. (15)

## 2.2 Marco Teórico

### 2.2.1 *Caesalpinia spinosa*:

#### 2.2.1.1 Identificación botánica de la especie:

- Nombre científico: *Caesalpinia spinosa* Molina o Kuntze.
- Nombres comunes: tara, taya, divi divi de tierra fría o dividi de los andes, guarango, vinillo, serrano, cuica.
- Familia: *Leguminosae caesalpinieae*
- Géneros: consta de 48 especies dentro de los cuales se encuentra el género *Caesalpinia*.
- Su nombre se debe a su descubridora Andrea Caesalpini, botánica y filósofa italiana; el término *spinosa* proviene del latín “*spinus-a-um*” que significa con espinas. (16)

#### 2.2.1.2 Descripción botánica:

La Tara es un árbol pequeño cilíndrico propio de la zona andina, mide entre 3 a 5 metros de longitud, posee una corteza gris espinosa, provista de ramas pobladas las cuales muchas veces nacen desde la base confundándose con varios tallos; su copa es escasa e irregular. (17) Presenta unas hojas simples color verde oscuro, ovoideas a manera de plumas brillantes de 1,5 cm. Presenta flores amarillas rojizas reunidas a manera de racimos midiendo entre 8cm a 15 cm; los frutos en forma de legumbre aplanadas de color naranja miden entre 8 y 12 cm de longitud y 2 cm de ancho, posee de 4 a 7 semillas de color pardo negruzco en estado maduro; por lo general de un árbol de tara se puede obtener 20 kg a 40 kg de vainas recolectando al año siendo de esta manera que el árbol produce frutos cada 3 a 4 años y su media de vida es de 100 años. (16)

#### 2.2.1.3 Hábitat:

La tara se localiza comúnmente en zonas costeras, serranías y bosques secos, siendo propia del Perú y se puede encontrar en diversas zonas áridas, pedregosas o arenosas de países como Venezuela, Ecuador, Colombia, Bolivia y Chile en su parte norte. Se ubica en suelos semiáridos y como linderos, árbol de sombra para cultivos y animales y también como árbol ornamental. (16) De igual manera este árbol no es exigente en cuanto a suelo corresponde debido a que posee la capacidad de soportar suelos secos, con pH 6-7,5, sin embargo no tolera suelos alcalinos ni temperaturas extremadamente bajas. (17)

#### 2.2.1.4 Composición química:

La tara en estado silvestre posee un gran potencial médico, alimenticio e industrial. Por lo cual hoy en día son usadas las vainas y semillas de tara, las cuales ofrecen ciertas propiedades que pueden ser aprovechadas debido a su composición química: (18)

- Hojas: está compuesta de aminoácidos, taninos, flavonoides, triterpenos y antroquinonas.
- Semillas: están conformadas por goma o hidrocoloide galactománico el cual gracias a esta goma se forma una solución acuosa semejante al pseudoplástico.
- Vainas: contiene taninos los cuales son hidrolizables la cual conlleva a la separación de ácido gálico, galato de etilo y cuatro galatos del ácido quinico que corresponden a ésteres metílicos de 4,5 - di - Ogaloilquinico y de 3, 4, 5 – tri - O - galoilquinico, y a los ácidos 3, 4 – di – O - galoilquinico y 3, 4, 5 – tri – O galoilquinico.

#### A. Taninos

Los taninos están constituidos por un amplio grupo de compuestos hidrosolubles con estructura polifenólica, capaces de precipitar ciertas macromoléculas (proteínas, alcaloides, celulosa, gelatina). (47)

Los taninos son polímeros polifenólicos producidos en las plantas como compuestos secundarios y que tienen la habilidad de formar complejos con proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos, esteroides, alcaloides y saponinas desempeñando en las plantas una acción defensiva frente a los insectos. Son astringentes (precipitan las proteínas) y curten la piel. Debemos mencionar que la astringencia se explica al acomplejarse los taninos con macromoléculas y provocar la precipitación de las glicoproteínas ricas en prolina que contiene la saliva. Químicamente se diferencian los taninos hidrolizables o hidrosolubles (pirogálicos: se hidrolizan en ácidos fenólicos y azúcares) y los taninos condensados no hidrosolubles (taninos catéquicos y los leucoantocianos; son polímeros muy difíciles de hidrolizar; lo más ampliamente distribuidos en las plantas). Los taninos se presentan en especies de familias vegetales de todo el mundo, se han identificado aproximadamente 500 especies de plantas que contienen varias cantidades de taninos, entre las principales familias botánicas con importancia en la obtención de taninos se pueden citar a las siguientes: Leguminosas, Rosaceae, Polygonaceae, Fagaceae, Rhyzophoraceae y Myrtaceae. (17)

Son polvos amorfos de color amarillo, aspecto grasiento, poco denso, solubles en agua y alcohol, e insolubles en éter, benceno y cloroformo; cuando se calientan a 210 °C se descomponen produciendo dióxido de carbono y pirogalol. (48)

Es indudable la importancia que los taninos vegetales han adquirido a través de los años, conforme se ha profundizado su conocimiento y encontrando aplicaciones tan variadas. Quizás la aplicación más antigua es en la industria del cuero, para el proceso del curtido, aprovechando su capacidad de precipitar proteínas; ésta propiedad fue también aplicada en los tejidos vivos, constituyendo la base para su acción terapéutica, empleándolos en medicina en tratamientos del tracto gastrointestinal y para las excoriaciones y quemaduras de la piel. En este último caso las proteínas forman una capa protectora antiséptica bajo la cual se

regeneran los tejidos. También se prescriben como astringentes. Externamente, los preparados a base de drogas ricas en taninos, como las decocciones, se emplean para detener pequeñas hemorragias locales; en inflamaciones de la cavidad bucal, catarros, bronquitis, quemaduras, hemorroides, etc. Internamente, son útiles contra la diarrea, enfriamiento intestinal, afecciones vesiculares, y como contravenoso en caso de intoxicación por alcaloides vegetales. En los últimos años, en los que ha sido posible el aislamiento y determinación estructural de muchos de estos taninos, ha aumentado la investigación de sus actividades biológicas en base a las diferencias estructurales presentes. Desde el punto de vista biológico los taninos son sustancias complejas producidas por las especies vegetales que cumplen funciones antisépticas o de conservación. (19)

Actividad terapéutica: Las acciones farmacológicas de los taninos están relacionadas con sus principales propiedades. Sus principales son: (19)

- Antídotos en intoxicaciones por metales pesados y alcaloides.
- Astringentes, debido a su capacidad para precipitar proteínas de la piel (curtido de la piel), proteínas salivares, etc. Por su capacidad astringente se usa por vía externa como cicatrizante y por vía interna antidiarréicos.
- Antisépticos, tienen una acción bactericida y bacteriostática. También ejercen un efecto antifúngico.
- Protectores, los taninos aplicados en forma de pomada de uso externo impermeabilizan la piel y la protegen de los agentes externos.
- Antioxidante, son capaces de captar radicales libres e inhibir la peroxidación lipídica. Inhiben la autooxidación del ácido ascórbico (Vitamina C)



## B. Flavonoides

Los flavonoides proceden del metabolismo secundario de los vegetales a través de la ruta del ácido shikímico y la ruta de los policétidos. Los flavonoides están ampliamente distribuidos entre los vegetales superiores y se encuentran prácticamente en todas las plantas superiores, sobre todo, en partes aéreas: hojas, flores y frutos. Algunos flavonoides son responsables del color amarillo de ciertas flores. Son estructuras del tipo C6-C3-C6, con dos anillos aromáticos (bencénicos) unidos entre sí por una cadena de 3 carbonos ciclada a través de un oxígeno. Son estructuras hidroxiladas (OH) en el anillo aromático por lo tanto son polifenólicas. (18)

Actividad terapéutica : Las diferentes especies que contienen flavonoides poseen acciones farmacológicas muy variadas. (16)

- Acción vitamina C (factor antiescorbuto)
- Antihemorrágicos
- Antirrítmicos
- Protectores de la pared vascular o capilar
- Antiinflamatorios
- Antirradicales libres
- Antihepatóxicos
- Antibacterianos, antivíricos y antifúngicos
- Diuréticos y antiurémicos
- Antiespasmódicos

#### 2.2.1.5 Usos tradicionales

Los frutos de la tara brindan diversos productos de interés, teniendo así que la vaina madura de tara representa un 65% de peso de los frutos teniendo una concentración mayor de taninos entre 40% y 60%. (20)

- Estos taninos son empleados en la industria textil para la elaboración de productos plásticos, adhesivos o el curtido de cueros; como bactericida y fungicida, aclarador de vinos, sustituyente de la malta para dar cuerpo a la cerveza y dentro de la industria farmacéutica al tener diversos usos terapéuticos. (21)
- Gracias a los taninos se obtiene el ácido gálico el cual es empleado como antioxidante en la industria cervecera y de aceite al tener efecto decolorante y blanqueador. También se emplea en la fotografía como tintes, agentes curtiembres, productos farmacéuticos. (10)
- A partir de las semillas se obtienen gomas, aceite, harina proteica que sirve para conseguir una consistencia en los helados, jabones, pinturas, barnices de uñas, tintes, mantecas y mantequillas comestibles debido a que contiene ácidos libres en 1,4% lo cual es aceptable para la comercialización gracias a su acidez baja. (21)
- La madera obtenida de este árbol se emplea en la industria maderera y en construcción, además de usarla como leña y carbón. (21)

#### 2.2.1.6 Actividad terapéutica

Debido a las propiedades y usos que los taninos ofrecen, investigadores han realizado diversos estudios para determinar las acciones farmacológicas que pueda brindar esta planta, entre las cuales son:

- En la industria médica se emplea en los medicamentos gastroenterológicos para el alivio de úlceras debido a su propiedad cicatrizante, antiinflamatorio, antibacteriano, antimicótico, odontálgico y antidisentérico. (22,23)
- Aporta con una acción astringente gracias a la capacidad de precipitar las proteínas de la piel y de la saliva. (20)
- En la medicina tradicional es empleada para el alivio de afecciones de garganta, infecciones vaginales, sinusitis, infecciones micóticas, limpieza de heridas, dolor de estómago, resfriado y depurativo del colesterol. (10,21)
- Al ser empleado en la industria textil para el curtido de cuero, investigadores vieron una posible acción terapéutica al emplear extracto de las vainas de tara en medicina, siendo así como identificaron propiedades antibacterianas, astringentes y anti fúngicas frente a diversos microorganismos como *C. diphtheriae*, *S. aureus*, *E. faecalis*, flora salival mixta y patógenos comunes orales. (10,13,24)
- Se emplea en excoriaciones, quemaduras de piel, hemorragias pequeñas localizadas, afecciones intestinales, vesiculares, diarreas, intoxicaciones, etc.(20)
- De las vainas maduras de esta planta se obtiene un polvo de color amarillento y consistencia poco densa y grasienta; este polvo es soluble en alcohol y agua, e insoluble en soluciones como éter, benceno y cloroformo

debido que al calentarse se pierden sus propiedades. Los extractos con cloroformo, acetona y hexano de flores de tara demostraron acción antibacteriana nula o mínima; por lo cual recomiendan el uso de extractos alcohólicos acuosos. (25)

Actividad farmacológica brindada por los taninos en: (10)

- Antiséptica
- Bactericida
- Bacteriostática
- Antifúngica
- Astringente
- Protectora
- Hipocolesterolémica
- Antídoto

## 2.2.2 Gluconato de clorhexidina:

### 2.2.2.1 Reseña histórica:

La clorhexidina es un antiséptico bisbiguanídico. Fue desarrollada en la década de 1940 en Inglaterra y se comercializó en 1954 como antiséptico para heridas de piel. Más adelante, el antiséptico empezó a utilizarse ampliamente en medicina y cirugía, incluidas las ramas de obstetricia, ginecología, urología y preparación prequirúrgica de la piel, tanto para el paciente como para el cirujano. La clorhexidina en odontología inicialmente se empleó para desinfectar la boca, a partir de 1970, se popularizó como enjuague bucal, capaz de inhibir la neoformación de placa y el desarrollo de la gingivitis. En 1975, consideraban viable el uso de la clorhexidina como irrigante en endodoncia. (36)

### 2.2.2.2 Mecanismo de acción

Su acción es el resultado de la absorción de clorhexidina dentro de la pared celular de los microorganismos de permeabilidad en la pared celular, originando trastornos metabólicos de las bacterias. Tiene un componente molecular catiónico que se adhiere a áreas de la membrana celular negativamente cargadas, provocando lisis celular. La cantidad de absorción de la clorhexidina depende de la concentración utilizada; consiste en la precipitación proteica en el citoplasma bacteriano, inactivando sus procesos reproductivos y vitales. Debido a las propiedades catiónicas de la clorhexidina, esta se une a la hidroxiapatita del esmalte dental, a la película de la superficie del diente, a proteínas salivares, a bacterias y a polisacáridos extracelulares de origen bacteriano. La clorhexidina absorbida gradualmente es liberada durante más de 24 horas, por eso se cree que reduce la colonización bacteriana en las superficies de los dientes. La clorhexidina es un ácido dicatiónica y su pH 5.5-6.0. (11)

#### 2.2.2.3 Ventajas del uso del gluconato de clorhexidina:

- El gluconato de clorhexidina es una solución relativamente no tóxica, posee amplio espectro antibacteriano y efecto antibacteriano residual
- No afecta el comportamiento de los cementos selladores a corto ni a largo plazo.
- La clorhexidina es un efectivo agente antibacteriano de amplio espectro.
- La clorhexidina ha sido utilizada en la terapia periodontal durante muchos años.
- Su uso como irrigante en endodoncia se basa en la sustantividad y en su efecto antimicrobiano de larga duración que deriva de su adhesión a la hidroxiapatita.

#### 2.2.2.4 Desventajas del uso del gluconato de clorhexidina:

- Como irrigante en endodoncia, no posee capacidad de disolución de tejido. (27)
- Produce efectos secundarios locales reversibles como son las manchas pardas en los dientes y lengua, pigmentaciones en restauraciones con resinas. (28)
- Alteraciones pasajeras de la percepción gustativa. (29)

#### 2.2.2.3 Gluconato de clorhexidina y su relación con el E. Faecalis:

La clorhexidina es un efectivo agente antibacteriano de amplio espectro que actúa en contra de bacterias gram positivas y gram negativas. La actividad antibacteriana de esta solución comprende un amplio espectro de microorganismos incluyendo E. Faecalis y el C. Albicans; sin embargo, para lograr el efecto letal contra estos microorganismos la concentración debe ser cuando menos al 1%, preferentemente al 2%. (41)

### 2.2.3 Hipoclorito de sodio:

El hipoclorito de sodio (NaOCl) no se presenta en polvo debido a que es una solución acuosa, resultando ser una sal disociada, la cual es una solución producto de una combinación de: ácido hipocloroso (HOCl) e hidróxido de sodio (NaOH) (30)



#### 2.2.3.1 Reseña Histórica

El NaOCl fue descubierto en 1787 por Berthollet, la cual uso para el blanqueamiento de textiles. Luis Pasteur en el siglo XIX verificó su efecto de limpieza cuando empleó contra microorganismos. (43) A partir de 1792 formó parte del grupo de compuestos halogenados tomando el nombre Agua de Javele producto de una mezcla de hipoclorito de sodio y potasio; en 1820 un químico francés Labarraque formuló esta sustancia al 2,5% de cloro activo, siendo empleado como desinfectante de heridas. Dakin en 1915 renovó la formula al 0,5% de cloro activo y ácido bórico siendo conocida como solución de Dakin, evidenció que la solución al 2,5% empleada en heridas desinfectaba pero su cicatrización era tardía sin importar en que concentración se encontrara el hipoclorito, debido a la gran parte de hidróxido de sodio presente en la solución. Reformuló la solución al 0,5% con un pH 11, añadiendo ácido bórico, solución con la cual no se obtuvo la cicatrización tardía gracias a que no existió liberación de hidroxilos y por ende no irritó los tejidos. (8)

### 2.2.3.2 Mecanismo de acción

El hipoclorito de sodio al entrar en contacto con tejidos orgánicos presenta reacciones químicas las cuales se resumen en 3: (8)

- Reacción de saponificación: al entrar en contacto el NaOCl con el tejido orgánico y grasas estos se convierten en sales de ácidos grasos y glicerol; mismos que van a colaborar con la reducción de la tensión superficial del resto de solución.
- Reacción de neutralización de aminoácidos: el hidróxido de sodio del NaOCl va a actuar neutralizando aminoácidos, destruyendo ácidos grasos, produciendo agua y sal.
- Reacción de cloraminación: al existir liberación de iones hidroxilos el pH del resto de solución se reduce; el ácido hipocloroso (HCl-) que en contacto con restos orgánicos se comporta como disolvente de los tejidos y libera cloro el cual se une a proteínas del grupo amina formando cloraminas que van a actuar como inhibidor bacteriano irreversible y antibacteriano . El HCl- e iones hipoclorito hidrolizan y destruyen aminoácidos.

### 2.2.3.3 Ventajas:

Propiedades del NaOCl: (17)

- Tensión superficial baja
- Actúa como antimicrobiano y neutraliza sustancias tóxicas
- Colabora con la instrumentación actuando como lubricante del conducto y blanqueador
- PH 11,5 - 12
- Deseca y disuelve tejido orgánico
- Ejerce acción como detergente



#### 2.2.3.4 Desventajas

Desventajas del empleo del NaOCl: (16)

- Irrita tejidos periapicales y blandos
- Corroe el instrumental
- Incapaz de remover barrillo dentinario
- Actúa ante tejido vital o necrótico
- Efecto antibacteriano limitado ante ciertos microorganismos
- Sabor desagradable
- No posee efecto de sustantividad

#### 2.2.3.5 Complicaciones del uso de NaOCl

Complicaciones durante el empleo del NaOCl (31)

- Quemaduras o daños en ojos y piel
- Necrosis tisular por extravasación de NaOCl en la región periapical
- Hipersensibilidad a NaOCl
- Inyección de NaOCl en zona gingival o tejidos blandos en lugar de anestésico en la cavidad oral
- Enfisema por excesiva presión de la jeringa durante la irrigación.

#### 2.2.3.6 Factores que afectan las propiedades del NaOCl

Existen varias causas que influyen en disminución o aumento de efectividad del NaOCl entre las cuales se encuentran: (30)

- Temperatura: su aumento contribuye con el incremento de la capacidad de disolver los tejidos necróticos y vitales presentes, con un aumento de 60 °C facilitando de esta manera la acción antibacteriana pero con el transcurso del tiempo tiende a degradarse por lo que no es recomendable su calentamiento.

- Dilución: esto hace que se disminuya su efecto antimicrobiano de manera significativa y por ende el poder de degradación de tejidos orgánicos y desbridamiento de los túbulos dentinarios.
- Pureza: conforme a la pureza química el NaOCl se divide en menos puro entre el 1% - 96% y puro de 96% - 100% siendo este último el que menos impurezas presenta por lo que es recomendable el empleo de NaOCl domésticos para el tratamiento de conducto.

#### 2.2.3.7 Presentación

Las diferentes concentraciones empleadas en Endodoncia se presentan desde 0,5% hasta 5,25%; dichas concentraciones dependen si se desea aumentar o disminuir las diversas propiedades que ofrece esta solución. (30) Varios investigadores optan por la disolución en dos partes del NaOCl 5,25% buscando reducir los daños periapicales que se pueden producir por la sobre instrumentación y excesiva presión efectuada en la irrigación en el momento del tratamiento de conducto, afectando así la acción antimicrobiana, destrucción de toxinas y disolución de tejidos. (32) El único irrigante capaz de erradicar las bacterias obtenidas a partir de periodontitis apical crónica es el NaOCl al 6%. (33) No existe diferencia significativa entre el uso del NaOCl al 1%, 2,5% y 5,25% para la erradicación bacteriana; ya que se podría obtener el efecto antimicrobiano de esta solución realizando un cambio frecuente y manejando cuantiosas cantidades de solución irrigante para compensar los efectos reducidos de las diversas concentraciones. (34)

#### 2.2.4 *Enterococcus*

Son bacterias que pertenecían a los *Streptococcus* del grupo D, según la clasificación de Lance Field en 1970; pero dicho género se aisló a partir del año 1984, debido a estudios serológicos que determinaron diferencias genéticas entre estos géneros. Los enterococos se dividen en 23 especies de las cuales muy pocas son consideradas patógenas para el ser humano y de importancia clínica, debido a la resistencia a medicamentos y su frecuencia en las infecciones nosocomiales; entre las cuales se encuentran el *E. faecalis*, *E. faecium*, siendo estas especies las más frecuentes en el tracto gastrointestinal, y *E. gallinarum* y *E. casseliflavus*, encontrados en menor proporción. (35) Estas bacterias se caracterizan por ser invasores oportunistas en pacientes por lo general neonatos, inmunodeprimidos y de tercera edad; por lo que provocan enfermedades sumamente graves como endocarditis y bacteriemias. Son responsables de infecciones postoperatorias y septicemias. (36)

##### 2.2.4.1 *Enterococcus faecalis*

El *Enterococcus faecalis* es una bacteria en forma de coco dispuesta en cadenas o pares, Gram positiva, anaerobia facultativa, inmóvil y no esporulada. El tamaño de cada célula oscila entre 0,5 y 0,8 micrómetros y es habitante normal del tracto gastrointestinal humano. Posee una pared celular con antígenos del grupo D, el cual es un ácido lipoteico que se encuentra asociado con la membrana citoplasmática de la bacteria y que contiene residuos de glicerol.

Se asocian en parejas y cadenas cortas y si bien su hábitat natural es el intestino, se han podido aislar a veces como microbiota normal en la mucosa bucal y dorso de la lengua. También se han descrito aislamientos de infecciones pulpo-periapicales y de bolsas periodontales. (56)

Son bacterias las cuales se las identifica normalmente en el tracto gastrointestinal, son responsables de enfermedades mortales para el ser humano debido a sus capacidades de supervivencia y resistencia a medicamentos y ambientes en los que se encuentren colonizando; son capaces de sobrevivir inclusive por falta de nutrientes; capaces de resistir temperaturas elevadas en presencia o no de oxígeno y medicamentos de amplio espectro; de igual forma estudios moleculares indican su frecuencia en la cavidad bucal en el surco gingival y lengua. (9) Por su presencia en la cavidad bucal se le atribuye como la principal causa del fracaso del tratamiento endodóntico en un 90% de casos, manifestándose con una infección periapical persistente luego del tratamiento de conducto y en un porcentaje menor en infecciones periapicales primarias. (16)

#### 2.2.4.1.1 Historia

Pertenecía a los *Streptococcus* del grupo D según la clasificación de Lance Field y a partir del año de 1984 debido a estudios serológicos se lo aisló y se formó el género *Enterococcus*; genero al cual el *Enterococcus faecalis* pertenece como especie. (35)

#### 2.2.4.1.2 Taxonomía

*Enterococcus faecalis*, se encuentra dentro de la familia *Enterococcaceae* del orden *Lactobacillales*; es una especie perteneciente al género *Enterococcus*, de entre las 33 especies que presenta este género. (9,36) De entre todas estas especies el *E. faecalis* y *E. faecium* son las especies que más se relacionan con la morbilidad y mortalidad del ser humano debido a su patogenicidad y resistencia bacteriana en un 90% de los casos clínicos. (36)

#### 2.2.4.1.3 Fisiología

Los enterococos son bacterias cocos Gram positivos que se presentan aislados, en parejas o cadenas cortas, inmóviles, no productoras de esporas, anaerobios facultativos que fermentan la glucosa sin producir gas, por lo que resultan ser catalasa negativo demostrando no presentar efervescencia en el momento de la identificación bacteriana, de esta manera se puede cultivar en presencia o no de oxígeno a partir de 10-40°C, resistiendo temperaturas altas de hasta 60°C durante 30 minutos; sobrevive en condiciones ambientales hostiles como pH extremadamente alcalino, cloruro de sodio al 6,5%, sales biliares y detergentes. (9)

#### 2.2.4.1.4 Patogenicidad

Debido a la capacidad de resistencia y supervivencia adquirida frente a una gama de medicamentos antimicrobianos y atravesar un estado de inanición por prevalecer en ambientes hostiles con falta de nutrientes, el *E. faecalis* mantiene su patogenicidad, la misma que aumenta dependiendo sus factores de virulencia y al tipo de pacientes que afecte; siendo los más susceptibles pacientes neonatos, de tercera edad e inmunodeprimidos debido que este microorganismo es un patógeno oportunista. (37)

El *E. faecalis* es responsable de varias enfermedades con un alto índice de morbilidad y mortalidad en el ser humano; siendo de suma importancia clínica en el ámbito odontológico debido a que se lo identifica con los fracasos de tratamientos de conducto en un 90% y en el campo médico no es la excepción, debido a que es responsable en un 83-90% de las infecciones nosocomiales. (9,37)

La patogenicidad del *E. faecalis* asume varias enfermedades nosocomiales entre las cuales se destacan: septicemia, infecciones de heridas quirúrgicas, infecciones del tracto urinario, infecciones de piel y tejidos blandos, infecciones de oído medio, infecciones relacionadas por catéter contaminado, peritonitis, vaginitis, infección del sistema nervioso central e infección del prepucio. (37)

#### 2.2.4.1.5 Factores de virulencia

El *E. faecalis* presenta varios factores de virulencia los mismo que le permite colonizar y desarrollarse en el hospedero, el dominio frente a otros microorganismos presentes, la supervivencia ante el mecanismo de defensa propio del hospedador y la presencia de patologías gracias a los productos metabólicos de la misma bacteria. (66) Estos factores se los resumen en los más importantes debido a que su virulencia no es definida completamente; entre los cuales se encuentran. (38)

- Sustancia de agregación: es una proteína superficial producida por el plásmido, el cual otorga la capacidad al *E. faecalis* de ingresar y adherirse a los tejidos del hospedador e internarse y sobrevivir al sistema de defensa del hospedador.
- Adhesinas y proteínas superficiales: se encuentran en la pared celular de la bacteria en la que proteínas y adhesinas presentes permiten al microorganismo adherirse a la matriz extracelular y de esta manera formar biopelículas enterocócicas.
- Feromonas sexuales: ayudan en la recepción de células donadoras las cuales poseen plásmidos para inhibir una respuesta inflamatoria.

- Ácido lipoteicoico: es una sustancia la cual actúa ayudando a la transferencia de plásmidos y formando agregados los cuales contribuyen con la virulencia de la bacteria.
- Producción de superóxido extracelular: el *E. faecalis* produce estos superóxidos los cuales son radicales de oxígeno que intervienen en el daño tisular y celular siendo responsables de las respuestas inflamatorias.
- Gelatinasa: esta metaloproteinasa interviene en la adherencia de la bacteria en los túbulos dentinarios aunque estudios no lo manifiestan completamente pero también ayuda en la supervivencia de la bacteria ya que sobrevive reflejando ser una fuente de nutrientes gracias a la acción de la gelatinasa.
- Hialuronidasa: esta enzima actúa asistiendo la desintegración del tejido tisular, aprovechando así una propagación bacteriana y de sus productos metabólicos como toxinas; extendiendo el daño de los tejidos del hospedador.
- Citolisina: son enzimas originadas por el *E. faecalis* la cual interviene como destructora de células del defensa y bacterianas, reduciendo de igual manera la acción terapéutica antibacteriana y antiinflamatoria; repercutiendo una infección significativa.

#### 2.2.4.1.6 *Enterococcus faecalis* y su relación con Endodoncia

Debido a que el *E. faecalis* resulta una gran amenaza para el tratamiento terapéutico frente a diversos medicamentos antibióticos gracias a su resistencia bacteriana a fármacos como la vancomicina; en el campo odontológico no es la excepción, por lo que resulta una bacteria muy predominante y resistente al momento de erradicar un proceso

infeccioso periapical, en el cual es responsable dicha bacteria y sobre todo resiste al tratamiento de conducto incluso con la aplicación de medicamentos intraconducto y sustancias desinfectantes. (9) La presencia de microbiota en endodoncia puede variar dependiendo del tipo de infección intrarradicular que se presente, primaria, secundaria o persistente; pero no obstante el *E. faecalis* se encuentra presente en cualquier tipo de infección intraradicular a diferente porcentaje; identificándolo en mayor prevalencia y frecuencia en las infecciones intrarradiculares persistentes. (16)

Por la relación del *Enterococcus faecalis* con los diversos tipos de infecciones intraradiculares, su resistencia bacteriana frente a medicamentos antibióticos y de conducto, su gran capacidad de patogenicidad y su gran prevalencia en los fracasos de tratamientos de conducto; es de suma importancia clínica una opción terapéutica dirigida a su erradicación. (69)

#### 2.2.4.1.7 Resistencia de *Enterococcus faecalis* a medicamentos

Los *Enterococcus* al ser habituales en el tracto gastrointestinal del ser humano se los identifica como patógenos oportunistas debido a que estudios indican que existen especies de este género las cuales presentan resistencia a medicamentos antibióticos como la vancomicina. (40)

A consecuencia que este género presente una resistencia propia a varias opciones de antibióticos como ampicilina y vancomicina, dicha firmeza se le atribuye a sus diversos factores de virulencia entre los cuales se le atribuye a los plásmidos, sustancia de agregación, gelatinasa, proteína superficial, citolisina, adhesinas y hialuronidasa; siendo estos factores una gran importancia para la supervivencia del *Enterococcus faecalis*. (38,41)



Debido a que el *Enterococcus faecalis* posee una gran capacidad de virulencia y presenta resistencia y supervivencia a medicamentos antibióticos como betalactámicos, amino glucósidos, macrólidos, quinolonas, tetraciclinas y vancomicina. (40) Los medicamentos intraconducto en el momento del tratamiento endodóncico no son la excepción en el cual estudios demuestran que el hidróxido de calcio tiene una acción muy limitada frente a esta bacteria. (42)

De igual manera diversos estudios identifican que el *Enterococcus faecalis* es poco o nada susceptible a la acción antimicrobiana de diversos medicamentos usados en la terapia endodóntica tanto en la preparación biomecánica y obturación temporal o definitiva, como: pastas antibióticas entre las cuales se encuentran Septomixine a base dexametasona, Calcipulpe a base de hidróxido de calcio, Grinazole a base de metronidazol y KRI-3 a base de paramonoclorofenol alcanforado. (5)

### 2.2.5 Microbiota endodóntica:

En la cavidad oral existe una gran diversidad de la microbiota endodóntica pudiendo identificarse desde virus, hongos, arqueas y protozoos; pero en su mayor prevalencia y predominio a las bacterias. (16) Desde el punto de vista microbiológico la cavidad bucal cuenta con diversas especies de microbiota que van de 500-600 especies; de las cuales en cada ser humano han sido identificadas entre 50 a 150 especies.(17) Normalmente existen bacterias Gram positivas y negativas respectivamente, las cuales luego de realizado el tratamiento endodóntico prevalecen; como lo son las Gram positivas facultativas o anaerobias como estreptococos, *P. micra*, *Actinomyces*, *Propionibacterium*, *P. alactolyticus*, *E. faecalis*, *Lactobacilos* y *Olcnella uli*. Dicha microbiota luego de efectuado el tratamiento endodóntico químico mecánico poseen capacidades de supervivencia y adaptabilidad prevaleciendo de esta manera bajo condiciones ambientales adversas; la destrucción total o parcial de estos microorganismos determina de cierta manera la inflamación de los tejidos periapicales o conllevando a un daño más grave como pudiera ser una cirugía periapical o la enucleación de la pieza dentaria. (16)

#### 2.2.5.1 Vías de invasión microbiana

La microbiota presente en la cavidad oral puede optar diversas vías de entrada hacia la cavidad pulpar, al ser estéril y encontrarse aislada de contaminación bacteriana gracias a barreras mecánicas como las propias estructuras dentarias; pero cuando esta integridad se llega a alterar o romper por diferentes causas existe la posibilidad de que una infección pulpar ocurra dependiendo su vía de entrada; la magnitud de la patología que se llegue a instaurar será de manera lenta o rápida. Existen diferentes vías de invasión que permite a los microorganismos colonizar el sistema de conductos. (16)

a) Túbulos dentinarios

Cuando la integridad del esmalte y dentina han sido afectados, la contaminación bacteriana es inminente, conllevando a una exposición pulpar y por ende una infección. Debido a la permeabilidad que poseen los túbulos dentinarios y su forma cónica que recorre toda la dentina. (16) Poseen un diámetro suficiente para el paso de bacterias, que alcanzan la pulpa dentaria por multiplicación bacteriana, mas no por desplazamiento propio, pero llega a ser facilitada su progresión debido a la presión ejercida por los materiales de restauración o impresión utilizados y al momento de la masticación en la cual se ejerce presión sobre las piezas dentarias, llegando a ser de esta manera la causa más probable de la infección pulpar. (17)

b) Defectos en el sellado marginal

La filtración de bacterias puede llegar a ser posible debido a la mala utilización de materiales de restauración, facilitando el paso de bacterias al interior de la cámara pulpar por medio de los túbulos dentinarios; debido a que no se ha empleado un método de adhesión con un sellado óptimo, permitiendo así a las bacterias invadir los túbulos y por ende a la pulpa dentaria. Los defectos del sellado marginal es una de las causas por las cuales la rehabilitación integral de la pieza dentaria colapsa y de igual manera ocurre un fracaso en el tratamiento de conductos, ya que un sellado coronal inadecuado conlleva a la filtración y contaminación total de los conductos radiculares tratados. (17)

c) Infección periodontal

La comunicación que existe entre el tejido pulpar y el tejido periodontal permite el intercambio de nutrientes y un sin número de microbiota, la cual puede llegar a causar una lesión pulpar gracias a la relación anatómica pulpa-periodonto; las bacterias pueden ingresar al interior de la cámara pulpar a través de los conductos laterales o accesorios de menor tamaño que el foramen apical, resultando de esta correlación una infección secundaria apical debido a una patología periodontal existente. (17)

d) Traumatismos

Existen un sin número de causas las cuales exponen la cavidad pulpar directamente con la cavidad oral; pudiendo ser lesiones cariosas, atrición, bruxismo, grietas, fisuras, fracturas, iatrogenias, etc. Cuando se presentan traumatismos dentales comprometiendo no solo esmalte incluso dentina o fractura de la corona dental y/o raíz, existe una clara y gran vía de ingreso para los microorganismos presentes en la cavidad oral, debido a que se encuentra en exposición túbulos dentinarios y en casos graves pulpa dentaria; en la cual los microorganismos invaden y se manifiestan con patologías a mediano o largo plazo dependiendo de la complejidad del traumatismo y del tipo de paciente afectado. (18) Pacientes niños y jóvenes son más susceptibles a sufrir traumatismos dentarios al estar en actividad constante y deportes de contacto y de igual manera poseen túbulos de mayor diámetro a diferencia de pacientes adultos y edad avanzada los cuales son más probables a sufrir de bruxismo en la cual existe una exposición de túbulos dentarios pero estos poseen un diámetro menor debido a su calcificación dentaria. (17)

e) Anacoresis

Este mecanismo de infección consiste en la invasión y colonización de microorganismos transportados a través del torrente sanguíneo hacia la pieza dental. (18)

Esta infección se da lugar cuando el diente presenta defectos en su sistema de defensa como puede ser una pulpa necrótica o en una sobre instrumentación durante el tratamiento de conducto, lesionando tejido periodontal permitiendo anidar en el conducto radicular bacterias pudiendo de esta manera multiplicarse y presentar patologías durante un tratamiento de conducto o inclusive luego de rehabilitada integralmente la pieza dental. (16)

2.2.5.2 Factores que afectan la colonización bacteriana

a) Puerta de entrada y dosis infecciosa

De acuerdo a la puerta de entrada disponible para los microorganismos será proporcional a la cantidad de bacterias que colonicen la pulpa dentaria, debido a esto la respuesta inflamatoria será aguda o crónica. (17) Por lo tanto una respuesta inflamatoria aguda dependerá de una vía de acceso mayor hacia el tejido pulpar y por ende una mayor cantidad de microorganismos en poco tiempo; al contrario una respuesta inflamatoria crónica se presentara al existir un ingreso de menor cantidad de microorganismos hacia el tejido pulpar por una puerta de entrada menor en un periodo de tiempo largo.(18) En resumen en cuanto a mayor sea la proliferación de bacterias en menor tiempo se obtendrá una respuesta inflamatoria mayor.

b) Adherencia y proliferación local

De acuerdo con la estructura y morfología de los microorganismos presentes en la cavidad pulpar y sus conductos radicular, laterales las bacterias se encuentran de una manera protegidas del sistema de defensa del hospedador y durante el tratamiento de conducto ya que utilizan dichos conductos para de esa manera adherirse y proliferar dentro del diente. (18)

2.2.5.3 Factores que afectan a la capacidad de producir daño

Independientemente de la capacidad que posean los microorganismos para ingresar, adherirse y proliferar dentro de la pieza dentaria, es de suma importancia la suficiencia con la que las bacterias dentro del conducto y cámara pulpar ejercen su actividad metabólica; la cual demuestra el nivel de virulencia de las bacterias. Existen bacterias las cuales ejecutan un mayor daño pulpar que otras liberando mejor o mayor cantidad de exotoxinas, endotoxinas, un sin número de productos metabólicos los cuales ayudan a que la lesión pulpar aguda y que sobrepase la capacidad de defensa del hospedador pudiendo sobrepasar su efecto bactericida y bacteriostático. Gracias a la acción metabólica de los microorganismos se determina su virulencia. (17)

2.2.5.3.1 Respuesta del hospedador

Al acceder la microbiota por cualquiera de las diferentes vías de entrada hacia el tejido pulpar y posteriormente liberar productos metabólicos se presenta una respuesta inflamatoria, la cual se denomina pulpitis; pudiendo ser una pulpitis reversible o irreversible. El tipo de pulpitis que se manifieste dependerá de la capacidad de defensa del hospedador, proporcionando así una aposición de dentina terciaria la cual va a servir como barrera ante el ingreso de microorganismos hacia la pulpa dental. Otro factor es la patogenicidad de las bacterias, esto depende en gran

parte y de sobremanera el tipo de bacterias y sus productos metabólicos liberados en el tejido pulpar lo cual va a influir en la respuesta inflamatoria. (18)

#### 2.2.5.3.2 Tipos de infecciones endodónticas

Las infecciones endodónticas pueden clasificarse de acuerdo a la localización anatómica que estas presenten en infecciones extraradiculares e intraradiculares; subclasificandose las infecciones intraradiculares en 3 tipos: primarias, secundarias y persistentes. (43)

##### A. Infecciones intraradiculares primarias

Este tipo de infecciones son conocidas también como infección inicial o virgen, debido a que los microorganismos invaden y colonizan el tejido pulpar necrótico desde el primer momento provocando una infección intraradicular, estos microorganismos pueden ser los mismos que en el principio colaboraron con la necrosis bacteriana o son los primeros en llegar hasta la pulpa necrótica y de esta manera aprovechan el ambiente necrótico, liberando productos metabólicos produciendo dicha infección. En este tipo de infecciones se encuentra una microbiota entre 20-30 especies de las cuales la mayoría son anaerobias, aunque puede existir especies facultativas o microaerófilas. (43)

Este tipo de infección primaria intraradicular evidencia una microbiota variada independientemente del tipo de periodontitis apical que se presente, la cual está compuesta por géneros de bacterias gram negativas siendo estas las más prevalentes: Dialister, Treponema, Prevotella, Fusobacterium, Tannarella, Porphyromonas, Haemophilus, Capnocytopaga y Neisseria. Pero además de bacterias gram negativas se encuentra bacterias gram positivas en esta flora endodóntica mixta, especies de bacterias las que se identifican en un mayor o igual porcentaje que las bacterias gram negativas mas prevalentes; entre estas

especies se identifican Actinomyces, Streptococcus, Propionibacterium, Peptostreptococcus, Enterococcus y Pseudoramibacter. (43)

La vía de entrada que los microorganismos utilicen para llegar hasta la pulpa vital, varía la composición de la microbiota, siendo de esta manera a causa de caries o traumatismos, exponiendo así la pulpa dental a las bacterias más prevalentes que son: cualquier bacteria presente en la cavidad oral, especialmente bacterias cariogénicas como estreptococos del grupo viridans, Lactobacillus spp., Actinomyces spp., Propionibacterium spp. y bacterias gram negativas. Al ingresar las bacterias a través de un daño o patología en el tejido periodontal las más prevalentes son: Peptostreptococcus spp., Streptococcus spp., Propionibacterium spp., Rothia dentocariosa, bacilos gramnegativos como especies de Porphyromonas y Campylobacter.(18)

En resumen los microorganismos más frecuentemente aislados en los conductos radiculares son: (18)

Staphylococcus aureus	Estreptococos orales
Peptostreptococcus spp.	Actinomyces spp.
Eubacterium spp.	Capnocytophaga spp.
Campylobacter spp.	Eikenella corrodens.
Porphyromonas spp.	Prevotella spp.
Mitsuokella dentalis	Selenomonas spp.
Lactobacillus spp.	Veillonella spp.
Enterococcus spp.	Treponemas orales



### B. Infecciones intraradiculares secundarias

Están provocadas por el ingreso de microorganismos que no se encontraban presentes durante la infección primaria, los cuales ingresan al conducto radicular luego de una intervención profesional; es decir, entre cita y cita o inclusive después de obturar el conducto radicular. De cualquier forma los microorganismos presentes tendrán la capacidad de adaptarse, sobrevivir y proliferar; dando así origen a la infección secundaria pese al ambiente hostil en el cual se desarrollan. (16)

### C. Infecciones intraradiculares persistentes

Este tipo de infecciones como su nombre lo indica, son persistentes debido a que los microorganismos que se encontraban en infecciones primarias o secundarias han conseguido sobrevivir pese al empleo de medicamentos antibacterianos intraconducto y culminado el tratamiento de conducto. Este tipo de infección intraradicular persistente se asocia con el fracaso del tratamiento de conducto debido a dos causas; una de las causas es que las bacterias invaden, colonizan y proliferan el interior del conducto durante el momento de obturación del conducto radicular y otra de las causas se basa en dientes que han sido tratados endodónticamente mostrando un daño periapical persistente podrá evolucionar en una infección intraradicular. (16)

Las infecciones intraradiculares tanto secundarias como persistentes están íntimamente relacionadas con el fracaso del tratamiento endodóntico, la microbiota de los conductos radiculares poseen dos etiologías las cuales se resumen en microbiota presente en el conducto en la fase de obturación radicular y microbiota en dientes tratados endodónticamente. Las bacterias que permanecen durante la fase de obturación y resultando ser las más prevalentes y resistentes ante todo el proceso terapéutico realizado son pocas bacterias gram negativas entre las cuales se encuentran bacilos anaerobios como Prevotella,

Campylobacter y *F. nucleatum*; de igual manera se encuentran especies gram positivas las cuales son mucho más resistentes y obtenidas en mayor porcentaje luego de instrumentar o aplicar medicación durante el procedimiento endodóncico; siendo frecuentes *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Propionibacterium*, *P. micra*, *E. faecalis*, *Lactobacillus* y *Olsenella*. Sin embargo, después de tratar los dientes endodóncicamente, se identifican microorganismos en el conducto radicular y dientes tratados con enfermedad postratamiento; al *E. faecalis*, *Pseudomonas* *alactolyticus*, *Propionibacterium propionicum*, *Filifactor alocis*, *Porphyromona gingivalis*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia*, *Candida albicans*; resultando más prevalente el *E. faecalis* identificado como el principal agente causal en los fracasos endodónticos. (16)

#### D. Infecciones extraradiculares

Este tipo de infecciones están relacionadas con las infecciones intraradiculares debido a la expansión del contenido bacteriano y sus microorganismos en los tejidos periradiculares teniendo la posibilidad de manifestar una periodontitis apical la cual puede ser controlada si el sistema de defensa del hospedador logra impedir que las bacterias alcancen tejido óseo u otra zona anatómica; sin embargo el hospedador no siempre va a lograr atenuar dicha microbiota debido a que se instaura una lesión sobrepasando el área de tejido periapical ocasionando una infección extraradicular. Debido a que las bacterias de infección intraradicular ha invadido y ocasionado lesiones extraradiculares la manifestación más común será un absceso apical agudo; sin embargo dependerá de la relación que tenga una infección intra y extraradicular para establecer un método terapéutico. Si mantiene relación estos dos tipos de infecciones se optará por un tratamiento endodóntico pero si no tiene relación alguna se procederá a una cirugía endodóntica. (43)

Una infección extraradicular puede ser dependiente o no de la existencia previa de una infección intraradicular; cuando dicha infección es dependiente se manifiesta de manera común con un absceso apical agudo. Cuando la infección intraradicular es solucionada con tratamiento endodóntico o la extracción del diente, el sistema defensivo del hospedero se hará cargo de la infección extraradicular; sin embargo existen especies que logran persistir en todo este protocolo terapéutico, como el *Propionibacterium* y *A. israelii*; esta bacteria comúnmente aislada en los tejidos periapicales normalmente no responde a un tratamiento de conducto convencional. (16)

#### 2.2.6 Irrigantes en endodoncia

Durante el tratamiento de conducto el objetivo del profesional mediante la Endodoncia es erradicar del conducto radicular bacterias las cuales llegan a causar patologías periapicales; pero a través de la técnica mecánica no se obtiene una eliminación completa, debido a la complejidad anatómica radicular que puede presentar la pieza dentaria, esto impide de cierta forma no erradicar bacterias de su interior. Por lo que se recurre al empleo de sustancias químicas, las cuales brinden el complemento al tratamiento endodóntico para así lograr una disminución o eliminación aceptable de la carga microbiana presente. (44)

Dichas sustancias químicas a emplear deben de contar con características que determinen ser un irrigante ideal, siendo capaz de desinfectar la pieza dentaria de sedimentos orgánicos e inorgánicos, no desecar las paredes dentinarias y sobre todo contar con un resultado antimicrobiano eficaz. Hoy en día existen muchas sustancias las cuales se les considera un irrigante ideal y es empleando en la terapia endodóntica, entre los cuales se encuentran el Hipoclorito de sodio, clorhexidina, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y MTAD una solución compuesta por doxiciclina, ácido cítrico y un detergente tween 80. Estas soluciones son las más comunes empleadas actualmente pero no cumplen con ser un

irrigante completamente efectivo debido a que poseen propiedades antibacterianas o actúan como lubricante en el momento de la intervención endodóntica. (30)

#### 2.2.6.1 Irrigación y su importancia en Endodoncia

La irrigación consiste en la limpieza del conducto radicular con una o varias sustancias o soluciones medicadas; teniendo como objetivo de irrigación mecánico: buscando eliminar o disolver tejidos y desechos orgánicos e inorgánicos y lubricar el conducto. Como objetivo biológico se pretende ejercer su efecto antimicrobiano. (16) Es de mayor valor lo que se aísla del conducto radicular que lo que ahí se pone; con esto se busca considerar a la preparación biomecánica, en particular una irrigación de calidad que limpie y desinfecte las paredes del conducto radicular sin provocar un daño en corto o largo plazo con las sustancias que se involucren para conseguir dicho propósito. (4) Es un hecho que los profesionales odontólogos hoy en día buscan en la terapia endodóntica erradicar la patología periapical o evitar un fracaso futuro a través de la desinfección y obturación ideal. Pero para conseguir este final ideal es necesario realizar un limpieza y conformación de las paredes del sistema de conductos radiculares, con la cual se asegura una preparación correcta de los conductos radiculares y por ende una desinfección a través de la irrigación consiguiendo de esta manera eliminar o disminuir la carga bacteriana y barrillo dentinario infectado. (16)

#### 2.2.6.2 Reseña histórica

Mucho tiempo ha transcurrido desde que se empezó a emplear sustancias en el conducto radicular buscando aislar los tejidos y residuos presentes en el interior del conducto radicular; desde 1893 Schreir empleo potasio para eliminar tejido pulpar necrótico; luego en 1915 Dakin uso aceites clorados y a partir desde entonces el uso del hipoclorito de sodio al 0,5% era común en limpieza de heridas y se lo conoció como fórmula de Dakin.

Posteriormente en 1936 Walker admite que es necesario el uso de una sustancia irrigante confiando en el requerimiento del agua clorada gracias a que dicha sustancia desintegraba los tejidos y poseía acción bactericida. (45)

A partir de 1941, Grossman pondera al empleo de irrigantes en el tratamiento de conducto combinando peróxido de hidrogeno e hipoclorito de sodio obteniendo de esta forma una desinfección considerable debido a la efervescencia que se produce a cargo del peróxido. (30) Seidner en el año 1946, recurrió a un elemento de riego y aspiración para la limpieza durante el tratamiento endodóntico. Posteriormente Richmann, en 1957 optó por apostar por el ultrasonido en endodoncia, con el cual obtuvo resultados favorables. -(9)

Rapela en 1958 observando que no tenía un acceso apto a los conductos empleó detergentes sintéticos como vehículo para los antibióticos para así lograr un mejor acceso; en 1961, Stewart et al., añade el Glioxide, compuesto conformado por peróxido de urea 10% el cual posee actividad antimicrobiana y glicerol como vehículo y a su vez actúe como lubricante. En 1963, Ostby y Fehr manifestaron que la desmineralización efectuada por el EDTA era proporcional al tiempo de aplicación, comprobando que durante un tiempo de 5 minutos la dentina se desmineralizaba obteniendo una profundidad de 20-30  $\mu\text{m}$ .(31)

Stewart, en 1969 planteó el empleo de la técnica telese Rc-prep conformada por EDTA 15%, peróxido de urea 10% y una base de carbowax soluble en agua. Más tarde; Parsons en 1980, inquirió en el uso de la clorhexidina como solución irrigante en el tratamiento de conducto, analizando la sustantividad y efecto antibacteriano de la misma hasta por 7 días de su empleo. (45) Goldmann, utilizaró el ácido cítrico en 1988 como sustancia irrigante del conducto radicular pero se evidencio que producía una eliminación de la capa de barrillo dentinario al igual que el empleo del

EDTA. El hidróxido de calcio fue tomado como una opción a los irrigantes en el año de 1991, pero estudios realizados por Morgan., demostraron que no posee efecto alguno por si solo o ayudado con el hipoclorito de sodio al 2,5%. (30,45) Estudios comparativos acerca de la capacidad del MTAD como solución irrigante nueva, el hipoclorito de sodio al 5,25% y EDTA sobre el E. faecalis; manifestando que tanto el hipoclorito y MTAD poseen similares efectos inhibitorios, mucho más que el EDTA. (30)

### 2.2.6.3 Características de un irrigante

La elección de un irrigante no debe ser al azar, se debe basar en un sin número de parámetros con los cuales se obtenga un efecto de barrido, limpieza y desinfección. Por lo tanto el profesional debe conocer las propiedades y características de cada solución irrigante seleccionada. De allí que un irrigante debe contar con los siguientes requisitos. (8)

- Ser biocompatible con los tejidos periapicales
- Eliminar o disolver materia pulpar vital o necrótica
- Poseer la capacidad antimicrobiana para disminuir o erradicar microbiota presente
- Brindar lubricación y humectación para mejorar la acción de instrumentos
- Efecto de sustantividad o efecto antibacteriano residual
- Facilidad de obtener en el mercado
- Sencilla aplicación y preservación
- Período de duración apropiada
- Precio módico
- Acción rápida y resistida

## **CAPITULO III HIPÓTESIS, VARIABLES Y DEFINICIONES OPERACIONALES**

### **3.1 Hipótesis**

El extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 10%, 20%, 40% y 60%, posee mayor efecto inhibitorio in vitro, en comparación con el gluconato de clorhexidina al 2% y el hipoclorito de sodio al 5%; a las 24y 48 horas, sobre el *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

### 3.2 Operacionalización de las variables

<b>VARIABLES</b>	<b>INDICADORES</b>	<b>CATEGORIZACION</b>	<b>ESCALA DE MEDICIÓN</b>
Efecto inhibitorio in vitro del Extracto alcohólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) al 10%, 20%, 40% y 60%	Medida del halo de inhibición (mm)	Sensibilidad nula < 8mm Sensibilidad limite 8-14 mm Sensibilidad media: 14-20 mm Sumamente sensible :>20mm	Intervalo  Ordinal
Efecto inhibitorio in vitro del Gluconato de clorhexidina al 2%	Medida del halo de inhibición (mm)	Sensibilidad nula < 8mm Sensibilidad limite 8-14 mm Sensibilidad media: 14-20 mm Sumamente sensible :>20mm	Intervalo  Ordinal
Efecto inhibitorio in vitro del del Hipoclorito de sodio al 5%	Medida del halo de inhibición (mm)	Sensibilidad nula < 8mm Sensibilidad limite 8-14 mm Sensibilidad media: 14-20 mm Sumamente sensible :>20mm	Intervalo  Ordinal
Tiempo	Sustantividad (horas)	- 24 horas  - 48 horas	Ordinal



## CAPITULO IV METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

### 4.1 Diseño

El tipo de investigación es experimental, ya que fue un proceso de control en el cual se manipuló de manera intencional, las variables y de esta manera se observó en tiempo y midió en tamaño el efecto provocado sobre estas. Este estudio se realizó in vitro en el laboratorio y se evaluó la susceptibilidad de cepas de *Enterococcus faecalis* ante la solución del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* “tara” al 10%, 20%, 40% y 60%, el gluconato de clorhexidina al 2% y el hipoclorito de sodio al 5% a las 24y 48 horas.

Longitudinal porque consistió en realizar mediciones repetidas de un mismo hecho por el tiempo establecido con el objetivo de mostrar el comportamiento de las variables a estudiar, y descriptivo ya que se describieron diversos aspectos y dimensiones del fenómeno a investigar.

### 4.2 Ámbito de estudio

La elaboración del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 10%, 20%, 40%, y 60% se realizó en el laboratorio de Farmacia de la Facultad de Ciencias y la parte microbiológica se realizó en el Laboratorio de Biología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann.

### 4.3 Población y muestra

Se trabajó un total de 190 cultivos. La muestra estuvo constituida por 60 cajas Petri con cultivos bacterianos correspondientes a *Enterococcus faecalis*, en medio de crecimiento Müeller Hinton, las cuales contaron con las mismas propiedades y características, en las que se colocaron 3 discos con 30 uL de cada grupo de sustancia a analizar respectivamente, obteniendo 190 muestras en total; de las cuales 180 fueron muestras con las soluciones a analizar y 10 muestras que corresponden al grupo control.

#### 4.3.1 Criterios de Inclusión

- Cultivos bacterianos Müller Hinton en óptimas condiciones.
- Bacteria *Enterococcus faecalis* en condiciones adecuadas de conservación.
- Soluciones irrigantes en condiciones adecuadas de conservación y concentración.

#### 4.3.2 Criterios de Exclusión

- Cultivos bacterianos Müller Hinton que presenten alteraciones no propias de un cultivo puro y no recomendable para crecimiento.
- Bacteria *Enterococcus faecalis* que no se encuentre en condiciones adecuadas de conservación.
- Soluciones irrigantes que no estén en condiciones adecuadas de conservación y concentración.

#### 4.2 Instrumentos de Recolección de datos

El presente trabajo utilizó un instrumento que fue llenado por el investigador.

El instrumento tuvo las siguientes características:

- Tuvo la función de recolectar y registrar los datos sobre las medidas individuales de los halos en milímetros, formados alrededor de cada disco presentes en las placas sembradas.
- A las 24 horas de que se realizó la siembra se procedió a hacer las lecturas y el llenado de la ficha de recolección tomando en cuenta:
  1. La identificación de la muestra.
  2. La identificación de la concentración utilizada
  3. La medida en milímetros de los halos de inhibición formados.

- A las 48 horas de que se realizó la siembra se procedió a hacer las lecturas y el llenado de la ficha de recolección
  1. La identificación de la muestra.
  2. La identificación de la concentración utilizada
  3. La medida en milímetros de los halos de inhibición formados.

## CAPITULO V PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS DE DATOS.

### 5.1 Soluciones de estudio:

Extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 10%, 20%, 40% y 60%, gluconato de clorhexidina al 2% e Hipoclorito de sodio al 5%.

#### 5.1.1 Extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (tara):

Se obtuvo un kilogramo de vainas secas de *Caesalpinia spinosa*, teniendo en cuenta el color y el estado. Se pusieron a secar bajo luz solar por 72 horas con el fin de eliminar de forma eficiente la humedad.

Luego se procedió a moler las muestras secas en una moledora hasta obtener un polvo fino y homogéneo, de esta muestra se tomó 100 gr de la muestra molida y se colocaron en un frasco oscuro de vidrio con 600 mL de etanol comercial de 70° y fue llevado a maceración por 12 días.

El producto se filtró con papel filtro Whatmann N° 2 en un matraz. La solución obtenida fue de 350 ml. Luego se llevo el producto a una máquina de secado en dos bandejas de acero por 12 horas, después se llevó el producto en placas petri a la estufa a 40° C por 3 días, hasta la evaporación total del alcohol, obteniendo una masa de extracto de *Caesalpinia spinosa* de 75 gr. después de 4 días de evaporación; la cual fue guardada en un frasco de vidrio estéril hasta que dicho polvo se diluyó y colocó en discos de papel de filtro para probar su efecto antibacteriano.

#### 5.1.2 Gluconato de Clorhexidina al 2%

Esta solución irrigante fue adquirida en una botica medico dental en la ciudad de Tacna.

#### 5.1.3 Hipoclorito de sodio (NaOCl) 5%

La solución irrigante de NaOCl 5% fue adquirida en una botica medico dental en la ciudad de Tacna.

#### 5.1.4 Agua estéril (control negativo)

Solución estéril sin propiedades antibacterianas fue adquirida en una farmacia en la ciudad de Tacna.

#### 5.2 Obtención de la muestra:

La bacterias *Enterococcus faecalis*, fue adquirida a través de un Laboratorio de productos biológicos.

#### 5.3 Preparación del inóculo estandarizado y siembra de las muestras:

La bacteria *E. faecalis* fue incubada para su enriquecimiento y desarrollo en el medio de crecimiento agar Cerebro Corazón durante 48 horas a 35°C, posteriormente con un asa se procedió a tomar colonias bacterianas a partir del cultivo puro de *E. faecalis* para preparar suspensiones en tubos de ensayo con soluciones de 10 ml de agua destilada estéril hasta obtener una turbidez semejante a la escala de McFarland N°0.5, la cual sirvió para controlar la cantidad de microorganismos que son inoculados en el medio de cultivo Müller Hinton.

#### 5.4 Evaluación de la susceptibilidad del *Enterococcus faecalis* frente al extracto alcohólico de *C. spinosa* (Tara) al 10%, 20%, 40% y 60% mediante halos de inhibición:

##### 5.4.1 Preparación y aplicación de los discos de papel filtro a las placas inoculadas:

Se procedió a colocar los discos de papel filtro estériles, previamente impregnados con 30uL de cada una de las soluciones a comparar en este estudio, en una caja Petri con medio de crecimiento Müller Hinton la cual fue anteriormente acondicionado con el *Enterococcus faecalis*, estas muestras se incubaron a 35°C durante 24 y 48 hrs respectivamente.

#### 5.4.2 Lectura de los halos de inhibición:

Se realizó la medición de los halos de inhibición a las 24 y 48 horas con una regla milimétrica; las cuales se obtuvieron de cada caja Petri con agar Müller Hinton, posteriormente se recolectaron las medidas obtenidas por cada solución que se empleó en el estudio, en la tabla de recolección de datos previamente elaborada.

#### 5.5 Recolección de datos

Los datos obtenidos fueron recolectados en tablas pre elaboradas sobre una base de 15 repeticiones por sustancia elaborada (extracto de *C. spinosa* al 10%, 20%, 40% y 60%), 60 repeticiones para hipoclorito de sodio al 5% y 60 repeticiones para gluconato de clorhexidina al 2%; analizados a través de procesos estadísticos específicos mediante pruebas no paramétricas de Mann-whitney con el propósito de establecer en promedio una media obtenida por variable independiente, comparar la igualdad de medias obtenidas de las dos variables independientes y determinar una variable independiente mayor según la hipótesis y objetivos planteados.

## CAPITULO V RESULTADOS

### 5.1 Descripción de los efectos inhibitorios in vitro de *Caesalpinia spinosa* al 10%, 20%, 40% y 60%, el Gluconato de Clorhexidina al 2% y el Hipoclorito de sodio al 5%

**Tabla 01**

Distribución del efecto inhibitorio in vitro del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 10%, 20%, 40% y 60%, a las 24 y 48 horas.

Categorización (medida del Halo)	24 horas								48 horas							
	10%		20%		40%		60%		10%		20%		40%		60%	
	n <sub>i</sub>	%	n <sub>i</sub>	%	n <sub>i</sub>	%	n <sub>i</sub>	%	n <sub>i</sub>	%	n <sub>i</sub>	%	n <sub>i</sub>	%	n <sub>i</sub>	%
Sensibilidad nula (< 8mm.)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sensibilidad límite (9-14mm.)	2	13,3	1	6,7	0	0	0	0	6	40	0	0	0	0	0	0
Sensibilidad media (18-19mm.)	13	86,7	4	26,7	0	0	0	0	9	60	0	0	0	0	0	0
Sumamente sensible (>20 mm.)	0	0	10	66,6	15	100	15	100	0	0	15	100	15	100	15	100
Total	15	100	15	100	15	100	15	100	15	100	15	100	15	100	15	100

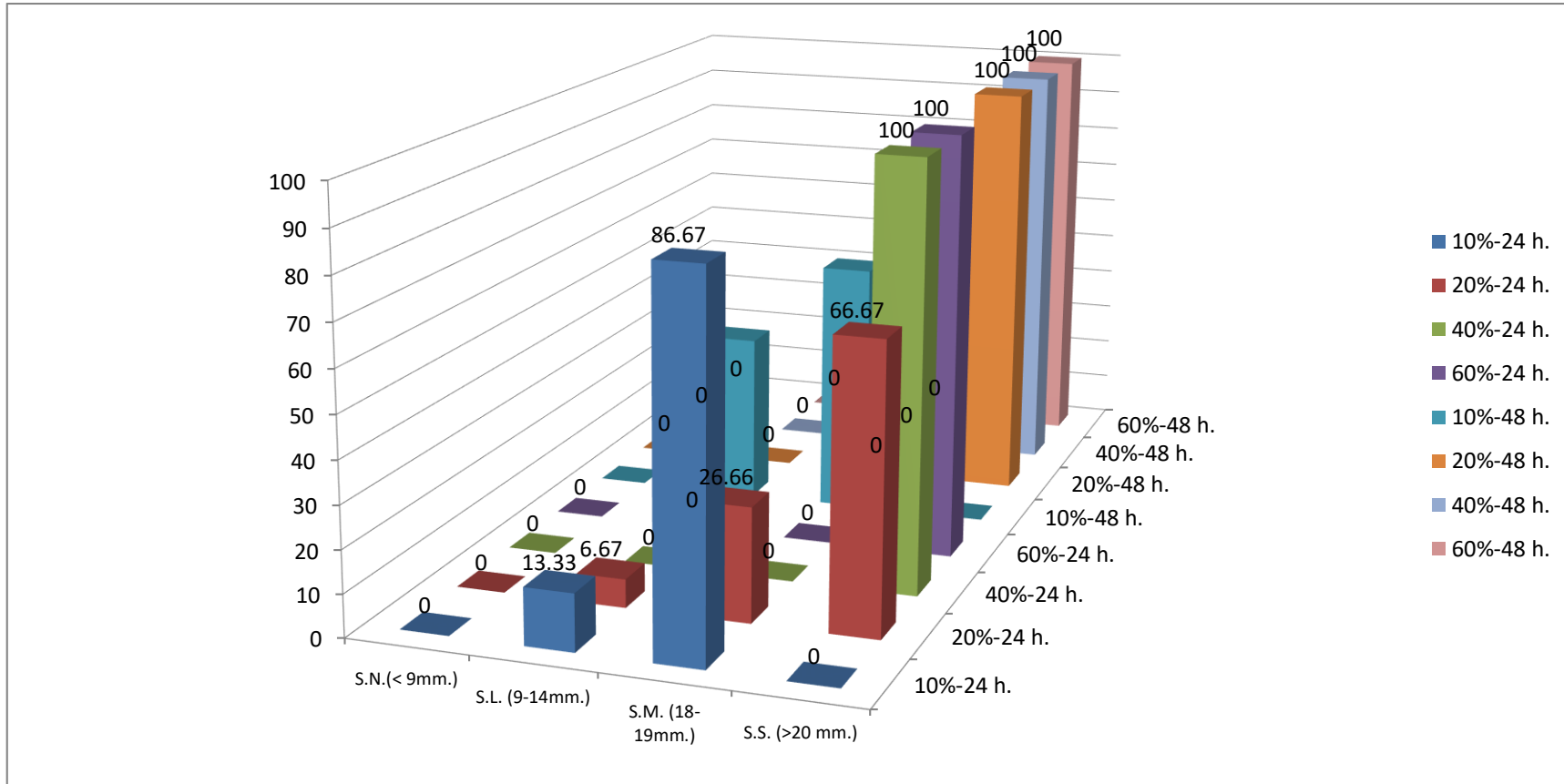
Fuente: Elaboración propia.

En la tabla se observa que no hay presencia de “sensibilidad nula”, en los efectos inhibitorios del extracto de *Caesalpinia spinosa* en todos los porcentajes en las 24 y 48 horas. Se tiene mayor porcentaje de sensibilidad del extracto de *Caesalpinia spinosa* al 10% en “sensibilidad límite” en un 40% en 48 horas, “Sensibilidad media” al 10% de extracto en 86,67% en las 24 horas y “sumamente sensible” al 20% de extracto en 66,6% en 24 horas y 100% en 48 horas y los restantes extractos de *Caesalpinia spinosa* al 40% y 60% en 100% en 24 y 48 horas.

En conclusión cuando se incrementa los porcentajes del extracto de *Caesalpinia spinosa*, se va incrementando la sensibilidad y de las misma manera ocurren con el tiempo.

**Gráfico 01**

Efecto inhibitorio in vitro del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 10%, 20%, 40% y 60%, a las 24 y 48 horas.



Fuente: Tabla 01



**Tabla 02**

Distribución comparativa del efecto inhibitorio in vitro del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 10%, 20%, 40% y 60% y el Gluconato de Clorhexidina al 2%; a las 24 y 48 horas.

Categorización (medida del Halo)	24 horas										48 horas									
	Extracto alcohólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara)								Gluconato de Clorhexidina 2%		Extracto alcohólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara)								Gluconato de Clorhexidina 2%	
	10%		20%		40%		60%		2%		10%		20%		40%		60%		2%	
	n <sub>i</sub>	%	n <sub>i</sub>	%	n <sub>i</sub>	%	n <sub>i</sub>	%	n <sub>i</sub>	%	n <sub>i</sub>	%	n <sub>i</sub>	%	n <sub>i</sub>	%	n <sub>i</sub>	%	n <sub>i</sub>	%
Sensibilidad nula (< 8mm.)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sensibilidad límite (9-14mm.)	2	13,3	1	6,7	0	0	0	0	2	3,3	6	40	0	0	0	0	0	0	2	3,3
Sensibilidad media (18-19mm.)	13	86,7	4	26,7	0	0	0	0	16	26,7	9	60	0	0	0	0	0	0	2	3,3
Sumamente sensible (>20 mm.)	0	0	10	66,6	15	100	15	100	42	70	0	0	15	100	15	100	15	100	56	93,4
Total	15	100	15	100	15	100	15	100	60	100	15	100	15	100	15	100	15	100	60	100

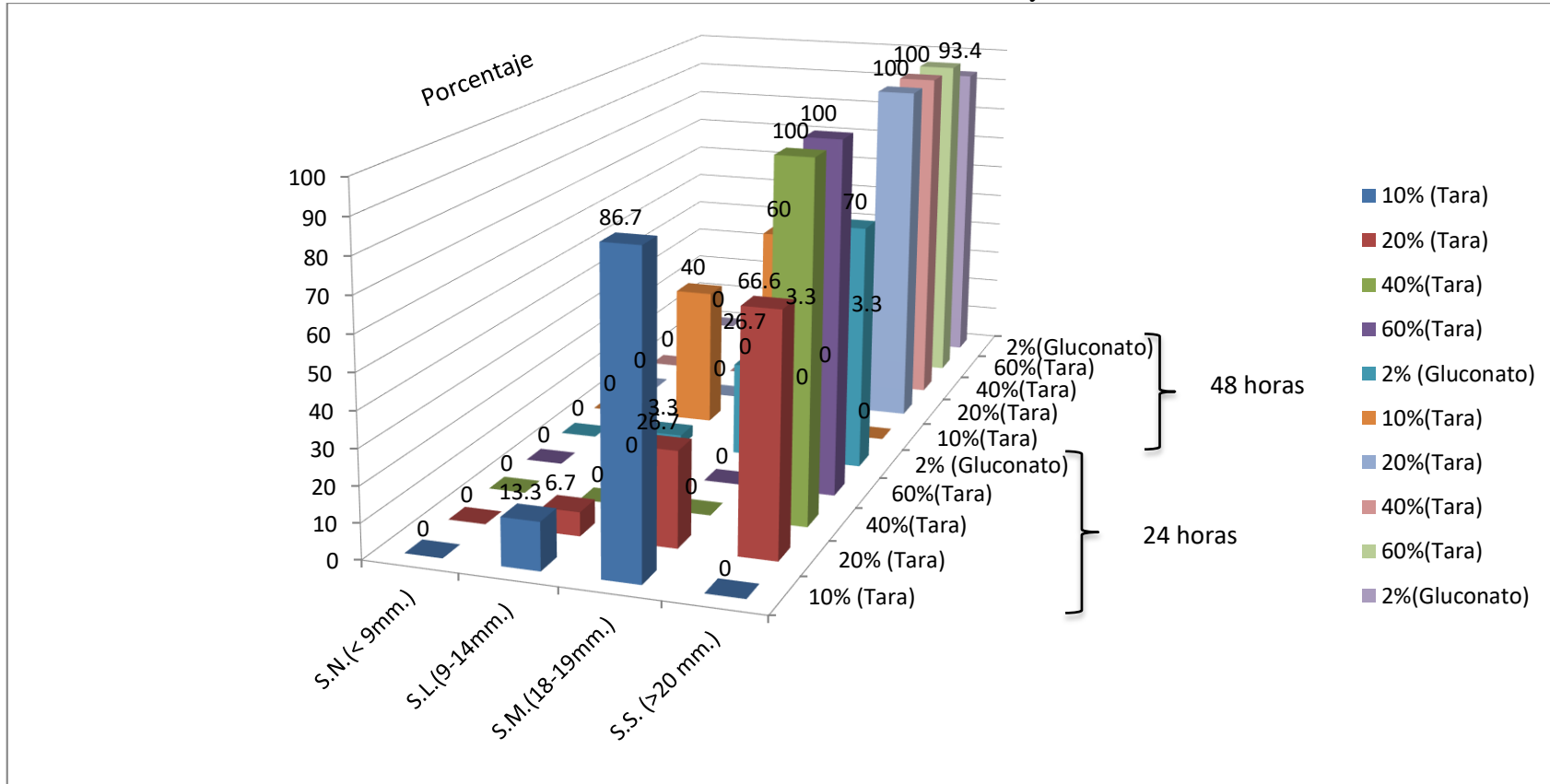
Fuente: Elaboración propia.

En la tabla comparativa se observa que hay una mayor sensibilidad porcentual en el gluconato de clorhexidina (70%) en el nivel de “sumamente sensible”, que es similar en lo referente al extracto de *Caesalpinia spinosa* al 20%, 40% y 60% en las 24 horas. Mientras que a las 48 horas los porcentajes de gluconato de clorhexidina se incrementan en un (93,4%) en el nivel de “sumamente sensible”, siendo porcentualmente similar en el extracto de *Caesalpinia spinosa* al 20%, 40% y 60% en un 100% de “sumamente sensible”.

En conclusión al 20%, 40% y 60% de extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* se obtiene valores porcentuales similares de frecuencia que las medidas del halo del gluconato de clorhexidina en la inhibición in vitro en la categoría de “sumamente sensible”.

**Gráfico 02**

Comparación del efecto inhibitorio in vitro del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 10%, 20%, 40% y 60% y el Gluconato de Clorhexidina al 2%; a las 24 y 48 horas



Fuente: Tabla 02

**Tabla 03**

Distribución comparativa del efecto inhibitorio in vitro del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 10%, 20%, 40% y 60% e Hipoclorito de sodio al 5%; a las 24 y 48 horas.

Categorización (medida del Halo)	24 horas										48 horas									
	Extracto alcohólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara)								Hipoclorito de sodio 2%		Extracto alcohólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara)								Hipoclorito de sodio 2%	
	10%		20%		40%		60%		5%		10%		20%		40%		60%		5%	
	n <sub>i</sub>	%	n <sub>i</sub>	%	n <sub>i</sub>	%	n <sub>i</sub>	%	n <sub>i</sub>	%	n <sub>i</sub>	%	n <sub>i</sub>	%	n <sub>i</sub>	%	n <sub>i</sub>	%	n <sub>i</sub>	%
Sensibilidad nula (< 8mm.)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sensibilidad límite (9-14mm.)	2	13,3	1	6,7	0	0	0	0	60	100	6	40	0	0	0	0	0	0	60	100
Sensibilidad media (18-19mm.)	13	86,7	4	26,7	0	0	0	0	0	0	9	60	0	0	0	0	0	0	0	0
Sumamente sensible (>20 mm.)	0	0	10	66,6	15	100	15	100	0	0	0	0	15	100	15	100	15	100	0	0
Total	15	100	15	100	15	100	15	100	60	100	15	100	15	100	15	100	15	100	60	100

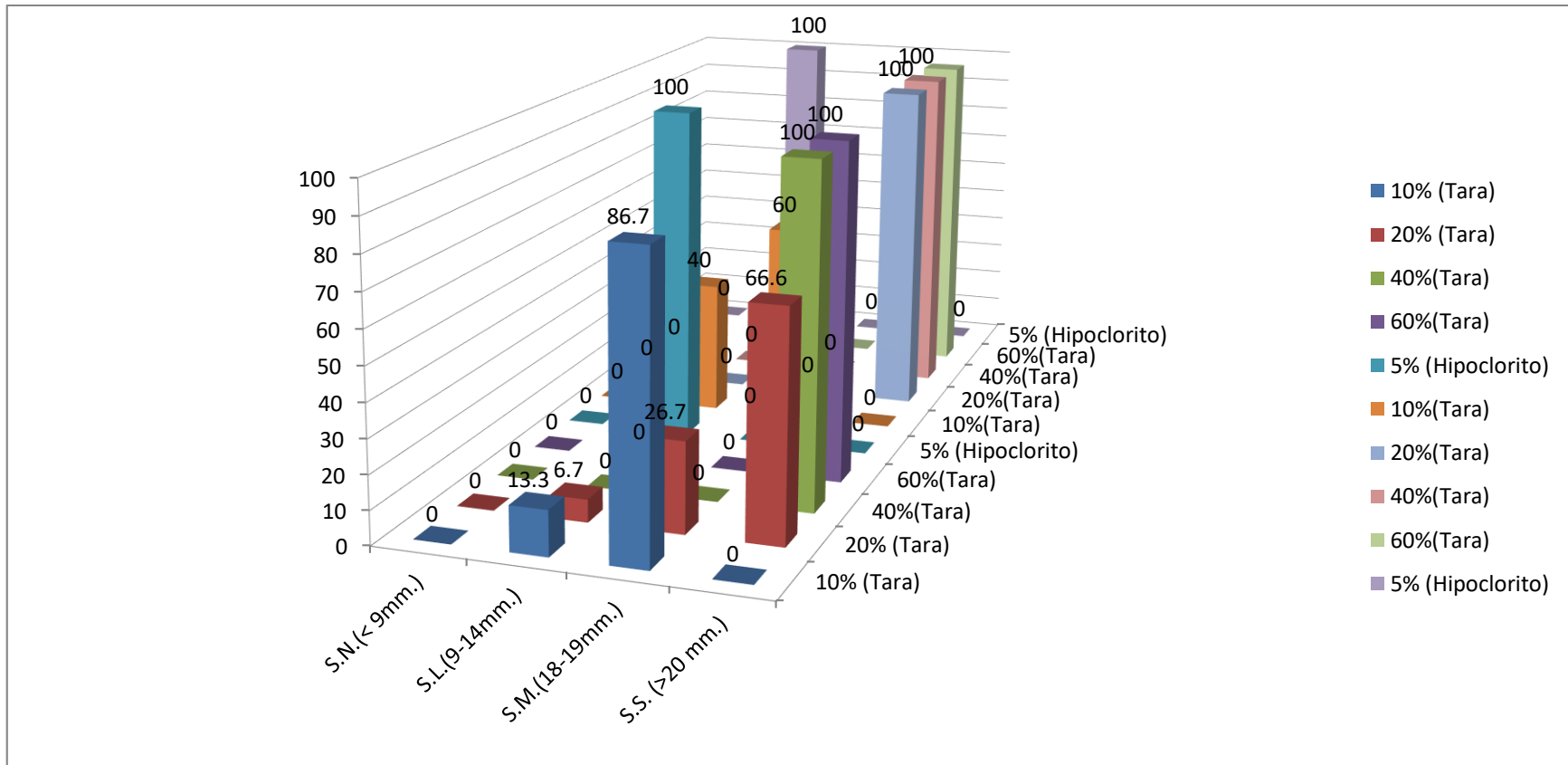
Fuente: Elaboración propia

En la tabla de comparación se observa que hay una mayor sensibilidad porcentual en el extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 40% y 60% (100%) en el nivel de “sumamente sensible” en las 24 horas. En 48 horas los porcentajes del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 40% y 60% se mantienen en 100% en el nivel de “sumamente sensible”, y el extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 20% alcanza el nivel de “sumamente sensible” en un 100% en 48 horas, mientras que el hipoclorito de sodio obtienen un 100% en el nivel de sensibilidad límite, ya sea en 24 horas y 48 horas.

En conclusión, el extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 20%, 40% y 60% obtienen niveles de sensibilidad superiores que el hipoclorito de sodio al 5% ya sea en las 24 horas o 48 horas.

**Gráfico 03**

Comparación del efecto inhibitorio in vitro del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 10%, 20%, 40% y 60% e Hipoclorito de sodio al 5%; a las 24 y 48 horas



Fuente: Tabla 03

## 5.1. Medidas estadísticas de las medidas de halo de inhibición

**Tabla 04**

Estadística de las medidas del halo de inhibición del Extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara)

	10% durante 24 horas	10% durante 48 horas	20% durante 24 horas	20% durante 48 horas	40% durante 24 horas	40% durante 48 horas	60% durante 24 horas	60% durante 48 horas
Media (mm.)	16,53	15,47	21,47	23,60	22,53	24,40	24,53	27,93
Desv. típ.	1,685	1,959	2,031	0,507	1,846	2,197	1,356	1,710
Coefficiente de variación (%)	10,190	12,667	8,3	2,148	8,194	9,006	5,526	6,121

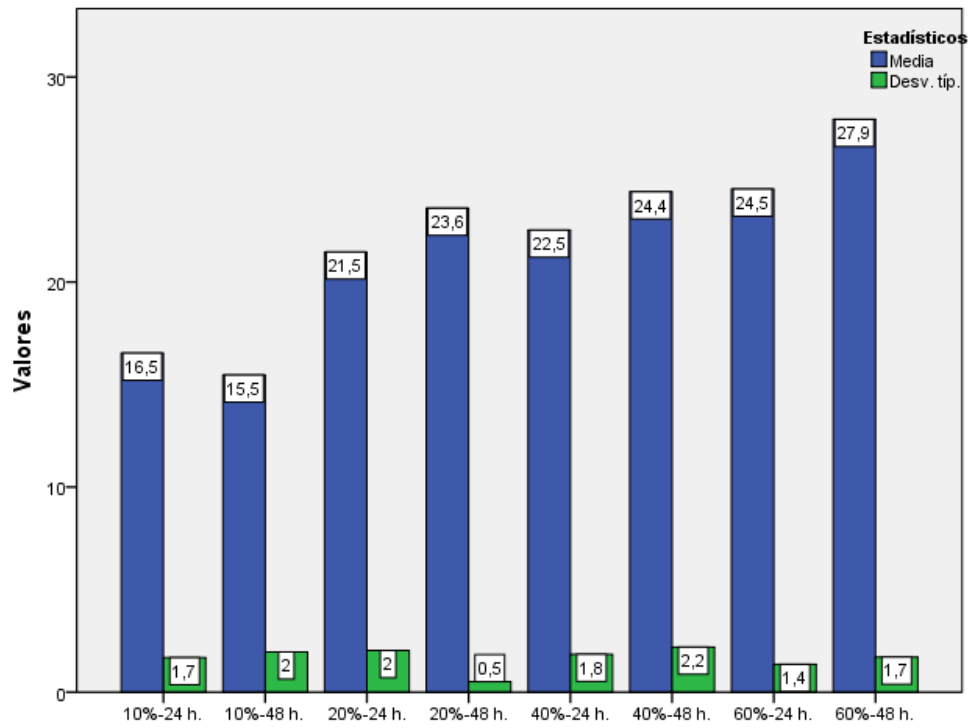
Fuente: Ficha de registro de datos

Según las medidas obtenidas, el mayor promedio del halo del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* se obtiene al 60% en 48 horas de aplicación con un 27,93 mm., mientras que la mayor regularidad de las medidas del halo se da al 20% en 48 horas, con un valor de 2,149% y la mayor heterogeneidad se obtiene al 20% con 24 horas de aplicación con un 12,875% de variación.

En conclusión se observa que las medidas del promedio se van acrecentando a medida que se incrementan los porcentajes del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa*, más no ocurre lo mismo en la homogeneidad o heterogeneidad de los datos medidas mediante el coeficiente de variación.

**Gráfico 04**

Medidas estadísticas del halo del Extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara)



Fuente: Tabla 04



**Tabla 05**

Estadística de las medidas de halo del Gluconato de Clorhexidina al 2% y del Hipoclorito de sodio al 5%

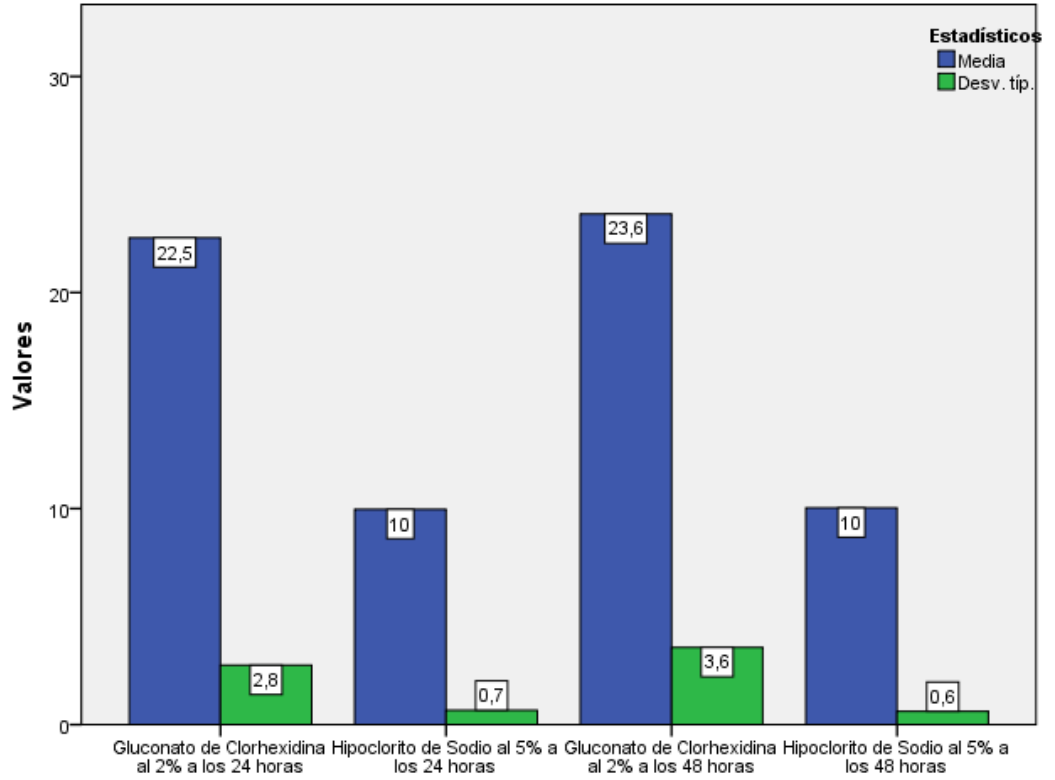
Medidas estadísticas	Gluconato de Clorhexidina al 2%		Hipoclorito de Sodio al 5%	
	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas
Media (mm.)	22,53	23,63	9,97	10,03
Desv. típ. (mm.)	2,751	3,577	0,669	0,615
Coefficiente de variación (%)	12,21	15,14	6,71	6,132

Fuente: Ficha de registro de datos.

Según la tabla se observa que los mayores promedios se obtiene en las medidas de los halos de gluconato de clorhexidina al 2% (22,53 mm. en 24 horas y 23,63 mm. en 48 horas) que el Hipoclorito de sodio al 5% (9,97 mm. en 24 horas y 10,03 mm. en 48 horas). Mientras que la menor dispersión de los datos con respecto al promedio se obtienen en los halos del hipoclorito de sodio (3,577mm. y 6,71 mm.) En conclusión el efecto inhibitorio de gluconato de clorhexidina al 2% resulta tener mayor alcance que el hipoclorito de sodio al 5%.

**Gráfico 05**

Medidas estadísticas del halo de halo del Gluconato de Clorhexidina al 2% y del Hipoclorito de sodio al 5%



Fuente: Tabla 05

**Tabla 06**

Estadística comparativa de las medidas del halo del extracto alcohólico de *Caesalpinia Spinosa* y el Gluconato de Clorhexidina al 2% a las 24 horas

Medidas estadísticas	Extracto Alcohólico de <i>Caesalpinia spinosa</i>				Gluconato de Clorhexidina al 2%
	10%	20%	40%	60%	
Media	16,53	21,47	22,53	24,53	22,53
Desv. Típ.	1,685	2,031	1,846	1,356	2,751
Coficiente de variación (%)	10,190	12,875	8,194	5,526	14,166

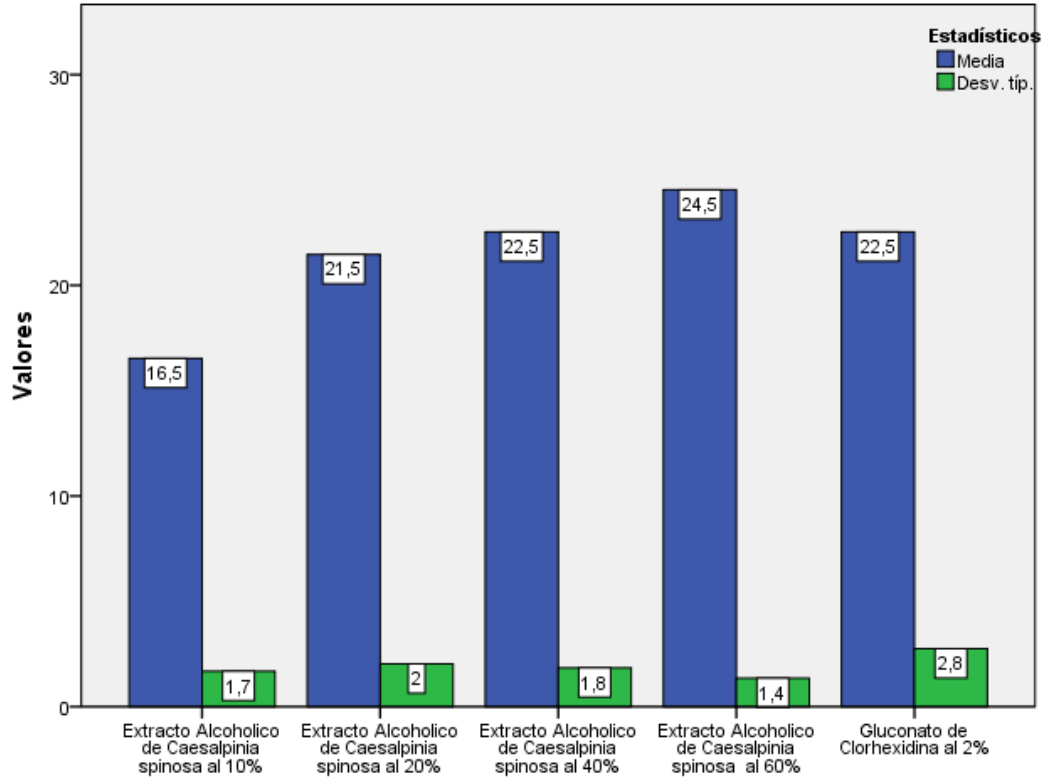
Fuente: Ficha de registro de datos

Según la tabla el promedio de la medida del halo del gluconato de clorhexidina al 2% es de 22,53 mm., que es superado por el extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 60 % con un promedio de 24,53 mm., mientras que la dispersión de la medida de los halos con respecto a la media es mayor en el gluconato de clorhexidina al 2% (2,751 mm.) que las medidas de dispersión del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 10%, 20%, 40% y 60%.

En conclusión el efecto inhibitorio de gluconato de clorhexidina al 2% resulta tener mayor alcance que el extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 10 y 20% en las 24 horas.

**Gráfico 06**

Medidas estadísticas del halo del extracto alcohólico de *Caesalpinia Spinosa* y el Gluconato de Clorhexidina al 2% a las 24 horas



Fuente: Tabla 06

**Tabla 07**

Medidas Estadísticas del halo del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* y el Gluconato de Clorhexidina al 2% a los 48 horas

Medidas estadísticas	Extracto Alcohólico de <i>Caesalpinia spinosa</i>				Gluconato de Clorhexidina al 2%
	10%	20%	40%	60%	
Media	15,47	23,60	24,40	27,93	23,63
Desv. típ.	1,959	0,507	2,197	1,710	3,577
Coefficiente de variación (%)	12,667	2,149	9,006	6,121	15,134

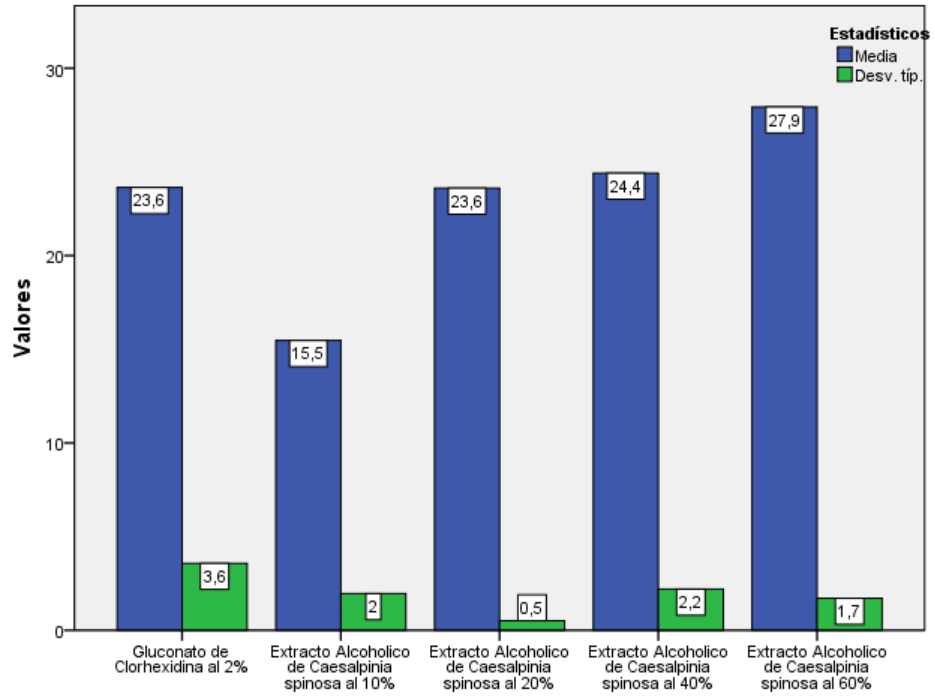
Fuente: Ficha de registro de datos

Según la tabla el promedio del gluconato de clorhexidina al 2% es de 23,63 mm. que es similar al *Caesalpinia spinosa* al 20% (23,6 mm.) y es superado por el extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* solo al 40% y 60 % con un promedio de (24,4 mm. y 27,93 mm.). Mientras que la dispersión de la medida de los halos con respecto a la media es mayor en el gluconato de clorhexidina al 2% (3,577 mm.) que las medidas de dispersión del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 10, 20, 40 y 60%.

En conclusión el efecto inhibitorio de gluconato de clorhexidina al 2% resulta tener mayor alcance que el extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 40 y 60% en 48 horas.

### Gráfica 07

Medidas Estadísticas del halo del extracto alcohólico de *Caesalpinia Spinosa* y el Gluconato de Clorhexidina al 2% a los 48 horas



Fuente: Tabla 07

**Tabla 08**

Estadística comparativa de las medidas de halo del extracto alcohólico de *Caesalpinia Spinosa* y el Hipoclorito de sodio al 5% a las 24 horas

Medidas estadísticas	Extracto Alcohólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> al 10%				Hipoclorito de sodio al 5%
	10%	20%	40%	60%	
Media	16,53	21,47	22,53	24,53	9,97
Desv. típ.	1,685	2,031	1,846	1,356	0,669
Coeficiente de variación (%)	10,190	9,46	8,194	5,526	6,709

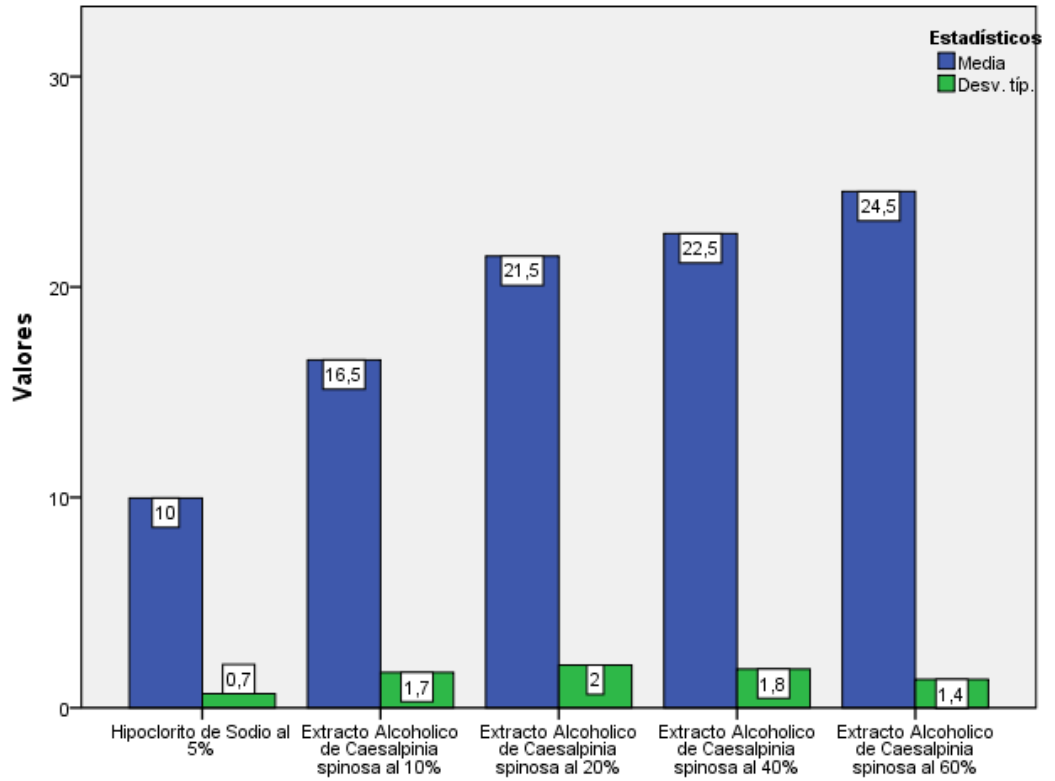
Fuente: Registro de datos.

Según la tabla el promedio de los halos de hipoclorito de sodio al 5% es de 9,97 mm. que resulta ser superado por los promedios del extracto de *Caesalpinia spinosa* al 10% (16,53 mm.), 20% (2147 mm.), 40% (22,53 mm.) y 60% (24,53 mm.). Mientras que la dispersión de la medida de los halos con respecto a la media es menor en el hipoclorito de sodio al 5% (0,669 mm.) que las medidas de dispersión del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 10, 20, 40 y 60%.

En conclusión el efecto inhibitorio de hipoclorito de sodio al 5% resulta tener menor alcance que el extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 10%, 20%, 40% y 60% en 24 horas.

**Gráfica 08**

Estadística comparativa de las medidas de halo del extracto alcohólico de *Caesalpinia Spinosa* y el Hipoclorito de sodio al 5% a las 24 horas



Fuente. Tabla 08



**Tabla n° 09**

Medidas estadísticas del halo del extracto alcohólico de *Caesalpinia Spinosa* y el Hipoclorito de sodio al 5% a las 48 horas

Medidas estadísticas	Extracto Alcohólico de <i>Caesalpinia spinosa</i>				Hipoclorito de sodio al 5%
	10%	20%	40%	60%	
Media	15,47	23,60	24,40	27,93	10,03
Desv. típ.	1,959	0,507	2,197	1,710	0,615
Coficiente de variación (%)	12,667	2,149	9,006	6,121	6,129

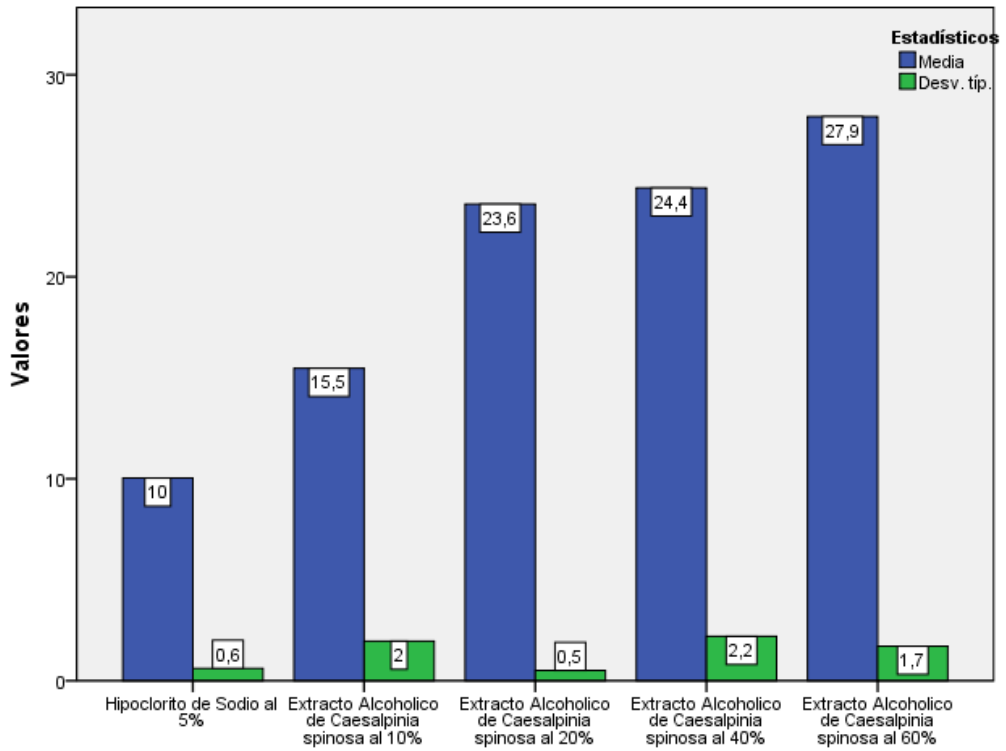
Fuente: Registro de datos.

Según la tabla el promedio de los halos de hipoclorito de sodio al 5% es de 10,03 mm., que resulta ser superado por los promedios del extracto de *Caesalpinia spinosa* al 10% (15,47 mm.), 20% (23,6 mm.), 40% (24,4 mm.) y 60% (27,93 mm.). Mientras que la dispersión de la medida de los halos con respecto a la media es menor en el hipoclorito de sodio al 5% (0,615 mm.) que las medidas de dispersión del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 10, 40 y 60%.

En conclusión el efecto inhibitorio del hipoclorito de sodio al 5% resulta tener menor alcance que el extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 10%, 20%, 40% y 60% en 48 horas.

**Gráfico 09**

Medidas estadísticas del halo del extracto alcohólico de *Caesalpinia Spinosa* y el Hipoclorito de sodio al 5% a las 48 horas



Fuente: Tabla 09

## 5.2. Contrastación de hipótesis de investigación

### Hipótesis de investigación

“El extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 10%, 20%, 40% y 60% %, posee mayor efecto inhibitorio in vitro, en comparación con el gluconato de clorhexidina al 2% y el hipoclorito de sodio al 5%; a la 24 y 48 horas, sobre el *Enterococcus faecalis* ATCC 2212”

Debido a que los datos no son uniformes a una distribución normal, se realizó la contrastación mediante las pruebas estadísticas no paramétricas:

#### i. Formulación de hipótesis estadística

- **Hipótesis nula (Ho):** El efecto inhibitorio in vitro del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 10%, 20%, 40% y 60 %, es mayor que el del gluconato de clorhexidina al 2% y el hipoclorito de sodio al 5%; a las 24 y 48 horas, sobre el *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

$$\mathbf{H_0: M_{HEACSi\%-jh} \leq M_{HGC2\%-jh} \wedge M_{HACSi\%-jh} \leq M_{HHS5\%-jh}}$$

$$i = 10, 20, 40, 60 \wedge j = 24, 48$$

- HEACSI: Halo del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa*.
- HGC2%: Halo de gluconato de clorhexidina al 2%.
- HHS5%: Halo de hipoclorito de sodio al 5%.

**Hipótesis alternativa (Ha):** El efecto inhibitorio in vitro del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 10%, 20%, 40% y 60 %, es igual al del gluconato de clorhexidina al 2% y el hipoclorito de sodio al 5%; a las 24 y 48 horas, sobre el *Enterococcus faecalis* ATCC 2212.

$$\mathbf{H_a: M_{HEACSi\%-jh} > M_{HGC2\%-jh} \wedge M_{HACSi\%-jh} > M_{HHS5\%-jh}}$$

$$i = 10, 20, 40, 60 \wedge j = 24, 48$$

#### ii. Nivel de significación: $\alpha = 0,05$

### **iii. Estadígrafo de prueba**

Se aplicará la prueba de Mann-Whitney, cuyo estadístico de prueba es:

$$T = s - \frac{n_1(n_1+1)}{2}, \text{ donde: } S = \sum_{i=1}^{n_1} R(X_{1i})$$

### **iv. Resultados de la aplicación del estadígrafo de prueba**

Los resultados anteriormente mencionados se obtuvieron mediante el programa estadístico SPSS.

## CAPÍTULO VI DISCUSIÓN

Adriana Haro Valencia (2015), obtuvo que el NaOCL 5,26% y el extracto de Tara 100%; son capaces de producir inhibición del crecimiento bacteriano; siendo durante las primeras 24 horas el NaOCl 5,25% más efectivo en comparación con el extracto de Tara 100%. Adicional a esto, se investigó el efecto de sustentividad de las soluciones en el transcurso de 48 y 72 horas; encontrando que el extracto de Tara 100% posee un efecto antimicrobiano mayor y prolongado en contraste con el NaOCl 5,25%, el cual presentó un efecto antibacteriano menor. El presente estudio evaluó el efecto inhibitorio in vitro del extracto de tara, el hipoclorito de sodio al 5% y gluconato de clorhexidina al 2% sobre el *E. faecalis*, los resultados obtenidos en halos inhibitorios demostraron que las 3 soluciones fueron capaces de producir inhibición del crecimiento bacteriano también se investigó el efecto de sustentividad de las soluciones en el transcurso de 24 y 48 horas, encontrando que el extracto de Tara posee un efecto antimicrobiano mayor y prolongado en contraste con el hipoclorito de sodio al 5%. Aunque en el presente estudio se obtuvo mejores resultados del extracto de tara a las 24 horas esto puede deberse a que los extracto se obtuvieron de forma distinta y a que el NaOCL usado en el primer estudio es de 5,25% y el nuestro es de 5%.

Cintya Flores Armas (2011). El extracto etanólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* “taya” posee actividad inhibitoria in vitro sobre el crecimiento de cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29210 a las 24 horas de su aplicación, el extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* presenta efecto inhibitorio cualitativo límite para las concentraciones del 10% y 20% y efecto inhibitorio medio para las concentraciones del 40% y 60%, sobre las cepas *Enterococcus faecalis* ATCC 29210. (según Duraffourd). En el presente trabajo el extracto alcohólico de *C spinosa* al 10%, 20%, 40% y 60% también posee actividad inhibitoria in vitro sobre el crecimiento de *Enterococcus*

*faecalis* ATCC 29212 a las 24 horas de su aplicación; sin embargo el extracto alcohólico de *C. spinosa* presentó efecto de sensibilidad media para la concentración de 10% y el efecto de sumamente sensible para las concentraciones de 20%, 40% y 60%.Obteniendo valores mayores de sensibilidad que en trabajo anterior.

Mariella Huarino Acho (2011), concluye que el extracto alcohólico de *C. spinosa* tiene efecto antibacteriano sobre la flora bacteriana mixta salival. Los valores de los halos de inhibición se encuentran entre los valores límite y sumamente sensible (según Duraffourd), a medida que se aumenta la concentración del extracto alcohólico de *C. spinosa* (de 6.25 mg/ml a 75 mg/ml) se obtiene un mayor diámetro del halo de inhibición y el efecto inhibitorio obtenido por las diferentes concentraciones del extracto alcohólico de *C. spinosa* (6.25mg/ml,12.5mg/ml, 25mg/ml, 50mg/ml y 75mg/ml) son de mayor diámetro que los obtenidos por los grupos control (Clorhexidina 0.12% y alcohol 70°). En el presente trabajo concluye que el extracto de *C. spinosa* también tiene efecto antibacteriano pero sobre la cepa *Enterococcus faecalis*, sus valores de los halos de inhibición se encuentran entre los valores de sensible y sumamente sensible (según Duraffourd), a medida que se aumenta la concentración del extracto alcohólico de *C. spinosa* (de 10%,20% 40%y 60%) también se obtiene un mayor diámetro del halo de inhibición y el efecto inhibitorio obtenido en las diferentes concentraciones también supera a los obtenidos por las otras sustancias en comparación.

Juan Bornaz Acosta (2014), según esta investigación el efecto de la *Caesalpinia espinosa* al 60% en el halo inhibitorio del *Enterococcus faecalis* en promedio fue de 9,51 mm. En el presente estudio el halo inhibitorio en promedio fue de 24.53mm superior al del trabajo ya mencionado; esto puede deberse a que los extractos fueron obtenidos de forma distinta en el estudio en comparación se usa el método de destilación y en el presente estudio el método de maceración, aunque se hable de un mismo porcentaje.

Kloucek, P. (2005), realizaron un ensayo antimicrobiano sobre extractos etanólicos al 80% de nueve plantas obtenidas por maceración durante 5 días, una de las muestras ensayadas fue la *C. spinosa* (vainas); se utilizaron cinco cepas Gram positivas y tres Gram negativas. Los resultados mostraron que el *Enterococcus faecalis* se observó una CIM de 0,5 mg/ml, mientras que para *Bacillus cereus* fue de 8, y de 16 para las otras bacterias, lo cual determina la especificidad y gran poder antimicrobiano de la tara frente a *Enterococcus faecalis*. (49) Dicho resultado concuerda con nuestro estudio en el que también se observó una actividad antibacteriana notoria.

Humberto Liu (2002) realizó un ensayo sobre la actividad antimicrobiana del extracto de Tara obtenido de las vainas, en el que se determina que las vainas poseen mayor efecto antimicrobiano sobre cepas gram positivas que el extracto de las semillas. (50) Esto concuerda con nuestro estudio debido a que el extracto que se preparó de las vainas de tara tuvo poder antimicrobiano sobre el *Enterococcus faecalis* que está considerado como un gram positivo.

## CAPÍTULO VII

### CONCLUSIONES

1. El extracto alcohólico de *C. spinosa* (Tara) al 10%, 20%, 40% y 60%, presenta menor, igual y mayor efecto inhibitorio in vitro sobre el *E. faecalis* a las 24 y 48 horas de su aplicación, comparado con el gluconato de clorhexidina al 2% y el hipoclorito de sodio al 5%.
2. El extracto alcohólico de *C. spinosa* (Tara) al 10%, 20%, 40% y 60%, presenta efecto inhibitorio in vitro sobre el *E. faecalis* a las 24 y 48 horas de su aplicación.
3. El extracto alcohólico de *C. spinosa* (Tara) al 10% y 20% presenta menor efecto, al 40% presenta igual y al 60% presenta mayor efecto a las 24 horas; a las 48 horas el 10% presenta menor efecto, el 20%, 40% y 60% presenta mayor efecto inhibitorio in vitro sobre el *E. faecalis* comparado con el Gluconato de clorhexidina al 2%.
4. El extracto alcohólico de *C. spinosa* (Tara) al 10%, 20%, 40% y 60%, presenta mayor efecto inhibitorio in vitro sobre el *E. faecalis* a las 24 y 48 horas de su aplicación comparado con el Hipoclorito de sodio al 5%.



## CAPÍTULO VIII

### RECOMENDACIONES

1. Realizar pruebas in vitro para valorar la efectividad y la toxicidad que pueden causar los componentes del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* e identificar la concentración mínima letal y mínima inhibitoria para integrarla en la terapéutica clínica.
2. Realizar estudios comparativos del efecto inhibitorio del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) con otros irrigantes y medicamentos intraconducto.
3. Realizar estudios experimentales in vitro sobre el efecto inhibitorio del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) en la gran variedad de microorganismos presentes en el conducto radicular, para ampliar el espectro de actividad antimicrobiana.
4. Utilizar otros métodos para la obtención de otras concentraciones del extracto de *Caesalpinia spinosa*, para ser utilizado como irrigante o medicamento intraconducto en endodoncia.
5. Realizar pruebas in vivo para determinar la dosis terapéutica y la concentración óptima para ser utilizado como irrigante y medicamento intraconducto en tratamientos endodónticos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Peters O. Current challenges and concepts in the preparation of root canal systems: a review. J Endod 2011
2. Sandra Vanessa Boblia Abad, Soluciones irrigadoras en endodoncia, Perú 2011
3. Adriana Haro Valencia. Estudio in vitro de la eficacia antibacteriana entre el extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 100% e hipoclorito de sodio al 5,25% sobre el *Enterococcus faecalis*, Ecuador, 2015
4. Hilú, R., & Balandrano Pinal, F, El éxito en endodoncia. Endodoncia, 2011
5. Rodríguez-Varo, L., Pumarola, J., & Canalda, C., Acción antimicrobiana in vitro de distintas medicaciones sobre *Enterococcus faecalis* y *Actinomyces israelii*, 2011
6. Pardi, G., Guilarte, C., Cardozo, E. I., & Briceño, E. N. Detección de *Enterococcus faecalis* en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico, Venezuela, 2011.
7. Sundqvist, G., & Figdor, D. Life as an endodontic pathogen. Endodontic Topics, 2011
8. Estrela, C. Ciencia Endodóntica. Brasil, 2011, Pérez Alfayate, R., Díaz-Flores García, V., Algar Pinilla, J., Valencia de Pablo, O., Estévez Luaña, R., & Cisneros Cabello, A; Actualización en microbiología, 2013
9. Pérez Alfayate, R., Díaz-Flores García, V., Algar Pinilla, J., Valencia de Pablo, O., Estévez Luaña, R., & Cisneros Cabello, R.. Actualización en microbiología endodóntica, 2013
10. Mariella Huarino Acho, Efecto antibacteriano de *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre flora salival mixta, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima – Perú 2014
11. Weber CD, McClanahan SB, Miller GA, Diener-West M, Johnson JD., The Effect of Passive Ultrasonic Activation of 2% Chlorhexidine or 5.25%

- Sodium Hypochlorite Irrigant on Residual Antimicrobial Activity in Root Canals. J Endodony
12. Flores Armas, Cintya, Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* taya sobre cepas *Enterococcus faecalis* atcc 29212”, Perú, 2011
  13. Juan Bornaz Acosta; Vanessa Bornaz Arenas y cols., Efecto in vitro de la Solución de Caesalpinia Espinosa (tara) al 60%, e hidróxido de calcio y gluconato de clorexhidina al 2% en el halo inhibitorio microbiano de *Enterococcus faecalis*, Universidad Jorge Basadre Groman Tacna-Perú 2014
  14. Sandra Paulina Ibarra Chérrez, Estudio in vitro del efecto antimicrobiano del aceite esencial de eucalyptus globulus (eucalipto) en comparación al hipoclorito de sodio al 2,5% y gluconato de clorhexidina al 2%, sobre cepas de *Enterococcus faecalis*, Ecuador, 2014
  15. Jorge Alamo-Palomino, Efectividad de tres irrigantes sobre el número de colonias de *Enterococcus faecalis* en la preparación de conductos radiculares in vitro, Perú, 2015.
  16. Cohen, S., & Hargreaves, K. Vías de la Pulpa. Barcelona- España, 2011
  17. Canalda Shali, C., & Brau Aguadé, E., Endodoncia. Técnicas clínicas y bases científicas, Barcelona, España, 2011
  18. Liébana Ureña, J. Microbiología Oral, Madrid: McGraw-Hill-Interamericana. 2011
  19. Alex Montenegro Chipana, Actividad antibacteriana de *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre porphyromonas gingivalis, Perú 2014
  20. Cabello Liu, I., Monografía para el cultivo de la tara *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze, Perú, 2011
  21. De la Cruz, P., Aprovechamiento integral y racional de la *Caesalpinia spinosa* -Caesalpinia tinctoria. Instituto de Investigación, 2011
  22. Bruneau, A., Forest, F., Herendeen, P., Klitgaard, B., & Lewis, G., Phylogenetic relationships in the Caesalpinioideae (Leguminosae) as inferred from chloroplast trnL intron sequences . Systematic Botany, 2011

23. Escobar Bobadilla, L. E., & Chávez Castillo, M, Efecto in vitro de diferente concentraciones de extracto de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze, sobre la viabilidad de *Corynebacterium diphtheriae*, Perú, 2011
24. Keramat, H., Moaddabi, A., & Ranjbari, A., In vitro antimicrobial effects of aqueous extracts of caesalpinia sappan linn. derivatives against oral pathogens y escobar bobadilla, 2014
25. Pulipati, S., Pallavi, G., Sujjan, B., Anil Babu, B., & Srinivasa Babu, P., Evaluation of antibacterial activity of fresh and dry flower extracts of caesalpinia pulcherrima, 2012.
26. Balandrano Pinal, F., Soluciones para irrigacion en endodoncia: Hipoclorito de sodio y Clorhexidina, 2011
27. Jose Soarez, Técnicas y Fundamentos 2014
28. Karina Hernández Martínez, Estudio clínico comparativo del uso del triclosan VS. Clorhexidina, en pacientes adultos con enfermedad periodontal activa, 2012
29. Benavides Navarro, Jaime Troncoso, María Carolina, Alteaciones del gusto con el uso de la clorhexidina al 0,2%
30. Miliani, R., Lobo, K., & Morales, O., Irrigación en endodoncia: puesta al día., 2012
31. Leonardo, M., Endodoncia: tratamiento de conductos radiculares: principios técnicos y biológicos, Brasil, 2011
32. Lahoud Salem, V., & Galvéz Calla, L. Irrigación endodontica con el uso de hipoclorito de sodio. Odontología Sanmarquina., 2011
33. Clegg, M., Vertucci, F., Walker, C., Belanger, M., & Britto, L., The Effect of Exposure to Irrigant Solutions on Apical Dentin Biofilms In Vitro. Journal of Endodontics, 2011
34. Siqueira, J., Rocas, I., Favieri, A., & Lima, K., Chemomechanical Reduction of the Bacterial Population in the Root Canal after Instrumentation and Irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% Sodium Hypochlorite. Journal of Endodontics, 2011.

35. Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. Microbiología Médica, Barcelona, España 2011
36. Díaz P, M., Rodríguez M, C., & Zhurbenko, R. Aspectos fundamentales sobre el género *Enterococcus* como patógeno de elevada importancia en la actualidad, Cuba, 2011
37. Quiñones Pérez, D., Marrero, D., Falero, B., Tamargo , I., Llop, A., Kobayashi, Susceptibilidad antimicrobiana y factores de virulencia en especies de *Enterococcus* causantes de infecciones pediátricas, Cuba 2011
38. Kayaoglu, G., & Ørstavik, D. ,Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: Relationship to endodontic disease, 2011
  
39. Araujo Díaz, J., & Salas Asencios, R. (2009). Actividad antimicrobiana del extracto crudo de la vaina de *Caesalpinia spinosa* "tara" frente al *Staphylococcus aureus*. Científica
40. Schell, C., Sparo, M., Bernstein, J., Grenóvero, S., Delpech, G., Pourcel, G., y otros. Factores de virulencia y multirresistencia en cepas de *Enterococcus faecalis* aisladas de infecciones invasivas humanas. 2014
41. Silva, J., Rodríguez, Y., Araya, J., Gahona, J., Valenzuela, N., Guerrero, K., y otros., Detección de genes de virulencia en cepas de *Enterococcus faecalis* susceptibles yresistentes a aminoglucósidos, Chile, 2013
42. Marques da Silva, B., Fagundes Tomazinho, F., Aguiar Anele, J., Piotto Leonardi, D., & Baratto Filho, F., A ação do hidróxido de cálcio frente ao *Enterococcus faecalis* nos casos de periodontite apical secundária, Brasil, 2011
43. Torabinejad, M., & Walton, R. E., Endodoncia, principios y práctica, España, 2011
44. Ballal, V., Kundabala, M., Acharya, S., & Ballal, M., Antimicrobial action of calcium hydroxide, chlorhexidine and their combination on endodontic pathogens, Australian Dental Journal y Miliani, R., Lobo, K., & Morales, O., Irrigación en endodoncia, 2012

45. Rico Romano, C., Córdoba del Moral, G., Mena Alvarez, J., Vera Morós, C., Garrido Lapeña, P., & Rodríguez Arrevola, N., Estudio in vitro de la eficacia del hipoclorito de sodio y la clorhexidina contra el *Enterococcus faecalis*, 2012
46. Malbran, Carlos G., Método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por dilusi3n, 2012
47. Yáñez Moreno, Andrea, Química orgánica-Fenoles, Ecuador, 2011
48. Cueva Sevillano, Alfonso, Plantas medicinales: Propiedades y Usos, Perú, 2011
49. Kloucek p, Polezny z, Svobodova b, Vlkova E, Kokoska L. Antibacterial Screening of Some Peruvian Medicinal Plants Used in Callería District. J. of Ethnopharmacol. 2005
  
50. Liu H, Lengua L, León G, La torre C, Huapaya J, Chauca J. Evaluaci3n de la Actividad Antibacteriana in vitro de los Extractos de *Caesalpinia spinosa* “tara” y *Eucalyptus* “eucalipto”. Rev Horiz Med, Perú, 2002

# **ANEXOS**

## ANEXO 1

### MEDIDA DEL HALO DE INHIBICIÓN EN LA PLACA MÜELLER HINTON

<i>Enterococcus faecalis</i>	Extracto alcohólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> al 10%		Extracto alcohólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> al 20%		Extracto alcohólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> al 40%		Extracto alcohólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> al 60%	
	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas
Muestra N°1								
Muestra N°2								
Muestra N°3								
Muestra N°4								
Muestra N°5								
Muestra N°6								
Muestra N°7								
Muestra N°8								
Muestra N°9								
Muestra N°10								
Muestra N°11								
Muestra N°12								
Muestra N°13								
Muestra N°14								
Muestra N°15								

Fuente: Mariella Huarino Acho, Efecto antibacteriano de *C.spinosa* sobre flora salival mixta, Perú 2014



## ANEXO 2

### MEDIDA DEL HALO DE INHIBICIÓN EN LA PLACA MÜELLER HINTON

<i>Enterococcus faecalis</i>	Hipoclorito de sodio al 5%		Gluconato de clorhexidina al 2%		Agua Estéril	
	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas
Muestra N°1						
Muestra N°2						
Muestra N°3						
Muestra N°4						
Muestra N°5						
Muestra N°6						
Muestra N°7						
Muestra N°8						
Muestra N°9						
Muestra N°10						
Muestra N°11						
Muestra N°12						
Muestra N°13						
Muestra N°14						
Muestra N°15						
Muestra N°16						
Muestra N°17						
Muestra N°18						
Muestra N°19						
Muestra N°20						
Muestra N°21						
Muestra N°22						
Muestra N°23						
Muestra N°24						
Muestra N°25						
Muestra N°26						
Muestra N°27						
Muestra N°28						
Muestra N°29						
Muestra N°30						

Muestra N°31						
Muestra N°32						
Muestra N°33						
Muestra N°34						
Muestra N°35						
Muestra N°36						
Muestra N°37						
Muestra N°38						
Muestra N°39						
Muestra N°40						
Muestra N°41						
Muestra N°42						
Muestra N°43						
Muestra N°44						
Muestra N°45						
Muestra N°46						
Muestra N°47						
Muestra N°48						
Muestra N°49						
Muestra N°50						
Muestra N°51						
Muestra N°52						
Muestra N°53						
Muestra N°54						
Muestra N°55						
Muestra N°56						
Muestra N°57						
Muestra N°58						
Muestra N°59						
Muestra N°60						

Fuente: Mariella Huarino Acho, Efecto antibacteriano de *C.spinosa* sobre flora salival mixta, Perú 2014

### ANEXO 03

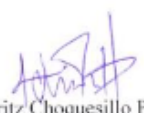
UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS				
<i>(Universidad del Perú, Decana de América)</i>				
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA				
INSTITUTO DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y RECURSOS NATURALES+				
SECCION QUIMICA ORGANICA APLICADA A LA FARMACIA				
TAMIZAJE FITOQUIMICO				
Muestra :	Extracto hidroalcohólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara)			
ANALITO	RESULTADOS			
Alcaloides	-			
Triterpenos y Esteroides	-			
Saponinas	-			
Compuestos fenólicos	+++			
Taninos	++			
Aminoácidos libres	+			
Quinonas	++			
Lactonas sesquiterpénicas	-			
Glicósidos	+			
Flavonoides	+			
Leyenda	(+)	(++)	(+++)	(-)
	Trazas	Cantidad moderada	Cantidad abundante	No detectable
Lima, 024 Octubre del 2013				
 Q.F. Fritz Choquesillo Peña				

Figura 1. Análisis fitoquímico del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Fuente: Montenegro Chipana, Alex - Actividad antibacteriana de *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre *porphyromonas gingivalis* -Perú 2014

**ANEXO 04: HALOS INHIBITORIOS DE GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2% Y HIPOCLORITO DE SODIO AL 5%**

GLUCO24H (mm.)	GLUCO48H (mm.)	HIPO24H (mm.)	HIPO48H (mm.)
24	19	9	9
20	12	9	9
24	29	10	10
19	24	10	10
25	25	10	9
19	20	10	10
24	26	10	11
26	26	11	11
24	26	10	10
19	20	10	10
20	24	10	10
24	25	11	11
19	20	9	10
25	29	10	10
26	26	9	9
24	25	11	11
26	26	9	9
25	26	11	11
20	20	10	10
24	26	10	10
19	24	10	10
24	24	11	11
24	26	10	10
19	20	9	10
19	20	11	10
20	20	9	10
24	25	10	10
26	26	10	10
25	26	10	10
19	24	10	10

**ANEXO 05: HALOS INHIBITORIOS DE EXTRACTO ALCOHÓLICO DE  
CAESALPINIA SPINOSA (TARA)**

EXTALCO 10%_24h	EXTALCO 10%_48h	EXTALCO 20%_24h	EXTALCO 20%_48H	EXTALCO 40%_24h	EXTALCO 40%_48h	EXTALCO 60%_24h	EXTALCO 60%_48h
14	12	19	24	20	21	26	30
19	19	14	24	25	28	23	26
16	14	20	23	21	23	23	26
15	14	24	24	21	24	24	27
18	18	22	24	24	24	26	29
17	15	19	23	20	23	24	27
19	18	22	23	25	28	26	30
16	14	24	24	23	24	24	27
17	15	22	23	24	25	26	30
14	14	19	24	21	24	26	30
15	15	24	24	22	23	23	26
18	17	23	23	25	28	25	28
15	14	21	24	22	23	26	30
18	17	19	23	24	26	23	26
17	16	20	24	21	22	23	27



Sensibilidad sensible	Sensibilidad sensible	Sensibilidad límite	Sensibilidad límite								
Sensibilidad media	Sensibilidad sensible	Sensibilidad límite	Sensibilidad límite								

## ANEXO 08: VERIFICACIÓN DE LA DISTRIBUCIÓN NORMAL DE LOS HALOS INHIBITORIOS

<b>Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra</b>													
Gluconato de Clorhexidina al 2%					Hipoclorito de Sodio al 5%				Extracto Alcohólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> (TARA)				
		24 h.	48 h.	24 h.	48 h.	10%- 24 h.	10%- 48h.	20%- 24 h.	20%- 48 h.	40%- 24 h.	40%- 48 h.	60%- 24 h.	60%- 48 h.
N		30	30	30	30	15	15	15	15	15	15	15	15
Parámetros normales <sup>a,b</sup>	Media	22,53	23,63	9,97	10,03	16,53	15,47	21,47	23,60	22,53	24,40	24,53	27,93
	Desviación típica	2,751	3,577	0,669	0,615	1,685	1,959	2,031	0,507	1,846	2,197	1,356	1,710
Diferencias más extremas	Absoluta	0,303	0,241	0,287	0,322	0,152	0,194	0,165	0,385	0,197	0,239	0,260	0,241
	Positiva	0,221	0,187	0,280	0,322	0,152	0,194	0,165	0,282	0,197	0,239	0,204	0,241
	Negativa	-0,30	-,241	-0,28	-0,31	-	0-	-	-	-	-	-	-
Z de Kolmogorov-Smirnov		1,66	1,319	1,569	1,762	0,589	0,752	0,639	1,491	0,762	0,925	1,008	0,932
Sig. asintót. (bilateral)		0,008	0,062	0,015	0,004	0,879	0,624	0,809	0,023	0,606	0,359	0,261	0,350

a. La distribución de contraste es la Normal.

b. Se han calculado a partir de los datos.



**Figura 02. Árbol de *Caesalpinia spinosa* (Tara)**



**ANEXO 09: Imágenes de la obtención del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara)**



**Figura 03. Separación de las semillas de las vainas**



**Figura 04. Vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara)**



**Figura 05.** *Caesalpinia spinosa* (Tara) molida



**Figura 06.** Maceración de la *Caesalpinia spinosa* (Tara) con alcohol 70°



**Figura 07. Proceso de filtrado**



**Figura 08. Máquina de secado semi-industrial a 40°C**



**Figura 09. Bandejas con el macerado de *Caesalpinia spinosa* (Tara),  
primeras 5 horas en máquina de secado**



**Figura 10. Placas petri con el macerado de *Caesalpinia spinosa* (Tara)**

**Después de 10 horas en maquina de secado**



**Figura 11. *Caesalpinia spinosa* en proceso de secado (1er día en estufa)**





**Figura 12. Cristales de tara (1er día en estufa)**



**Figura 13. *C. spinosa* en proceso de secado (2do día en estufa)**



**Figura 14. Proceso de molido final**



**Figura 15. Proceso de secado finalizado**



**Figura 16. Pesaje de la *Caesalpinia spinosa* (Tara) en polvo**



**Figura 17. Dilución de la *Caesalpinia spinosa* en polvo**



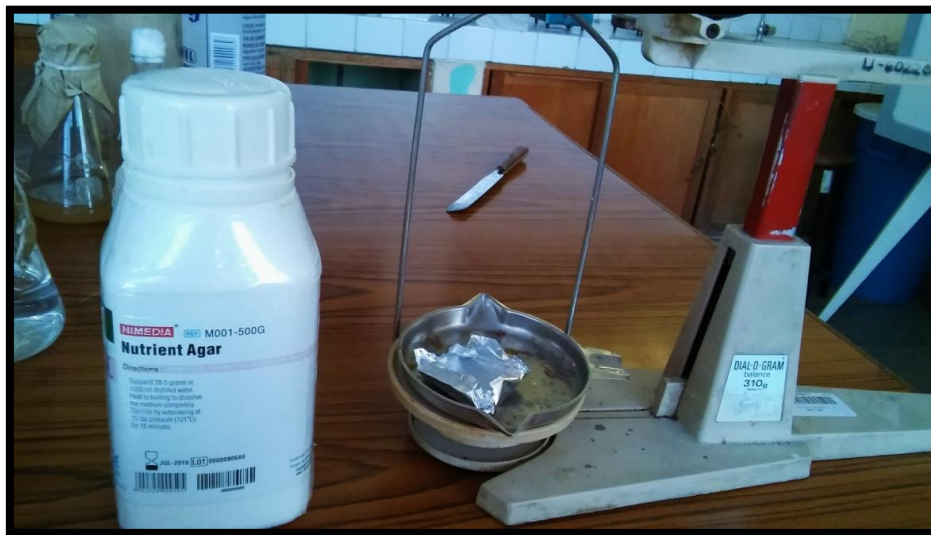


**Figura 18. Concentraciones de la Caesalpinia spinosa (10%, 20%, 40% y 60%)**

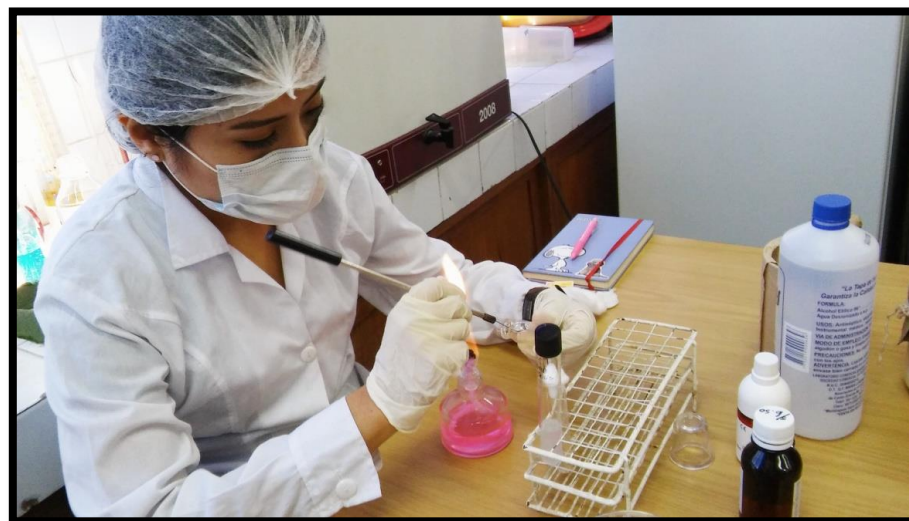


**Figura 19. Hipoclorito de sodio al 5%, gluconato de clorhexidina al 2% y Extracto alcohólico de Caesalpinia spinosa al 40%**

**ANEXO 10: Imágenes – Preparación del inóculo estandarizado y siembra de la muestra**



**Figura 20. Preparación del agar nutritivo**



**Figura 21. Preparación de la bacteria *Enterococcus faecalis***



**Figura 22. Viales inoculados con *Enterococcus faecalis***



**Fig. 20 Incubación de la bacteria *Enterococcus faecalis* a 35° C**





**Fig. 21 Toma de las colonias de *Enterococcus faecalis***



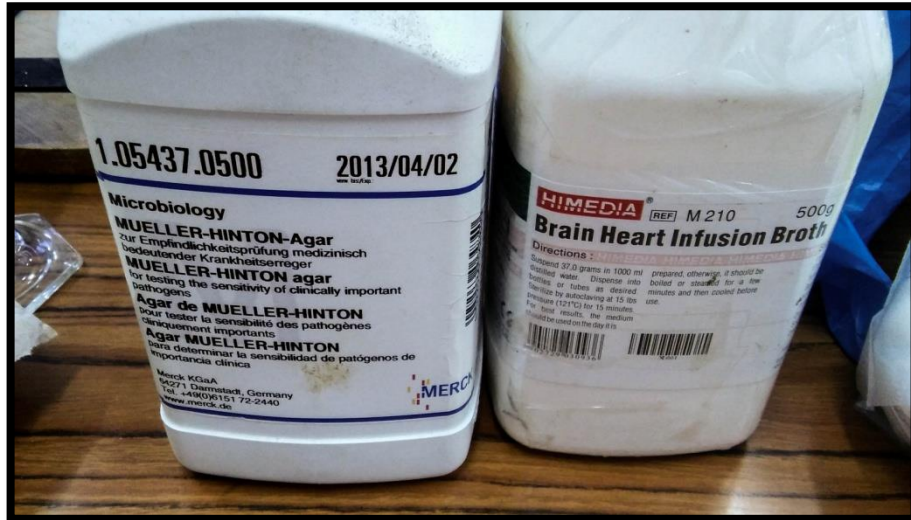
**Fig. 22 Bacteria *E. Faecalis* -Escala de Mc Farland al 0,5**



**Fig. 23 Homogenización en Mini-Vortex**



**Fig. 24 Estandarización de la bacteria. a la Escala de Mc Farland al 0,5**



**Fig. 25 Agar Mueller Hinton – Agar Cerebro Corazón**

**ANEXO 11: Preparación y aplicación de los discos de papel filtro a las placas inoculadas**



**Fig. 26 Aplicación de 100uLde E.faecalis en placas petri**

**Fig. 27 Plaqueo de la bacteria E. faecalis**







**Fig. 28** Aplicación de los discos impregnados con las soluciones



**Fig. 29** Placas petri en incubación a 35°C



**ANEXO 13: Preparación y aplicación de los discos de papel filtro a las placas  
inoculadas y lectura de halos de inhibición**

- Leyenda:    A: Hipoclorito de Sodio 5%  
              B: Gluconato de clorhexidina 2%  
              C: Extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 10%  
              D: Extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 20%  
              E: Extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 40%  
              F: Extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 60%

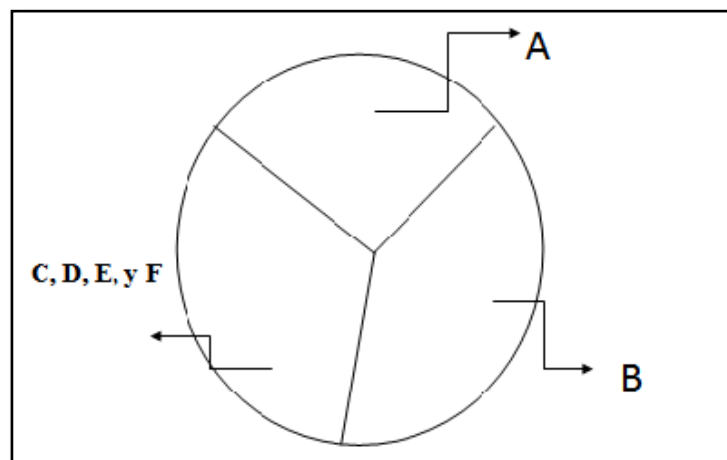
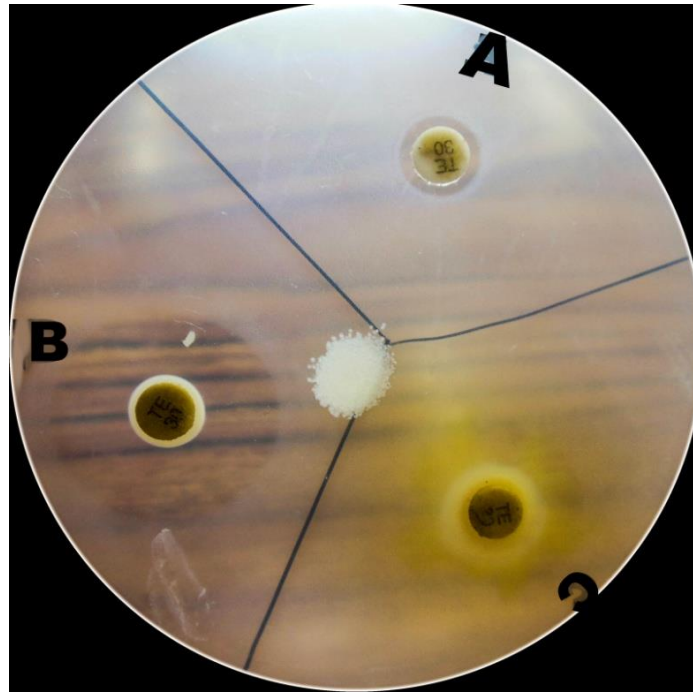
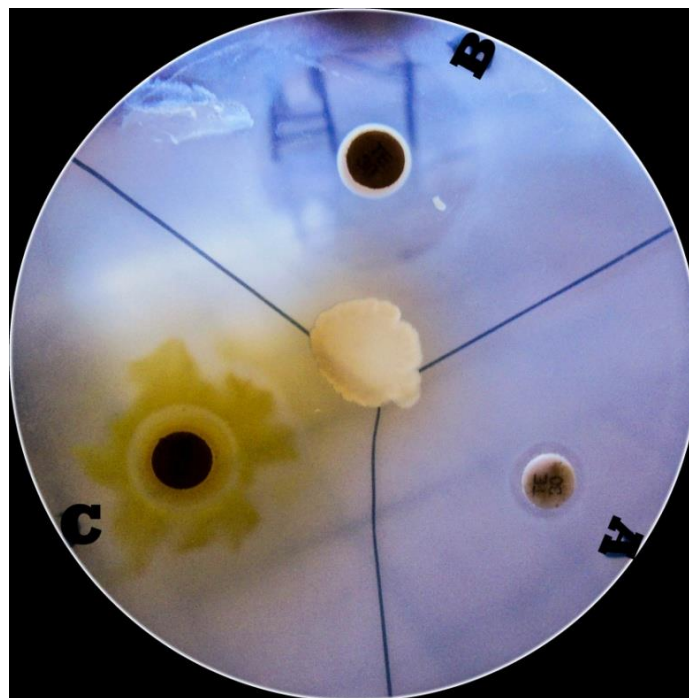


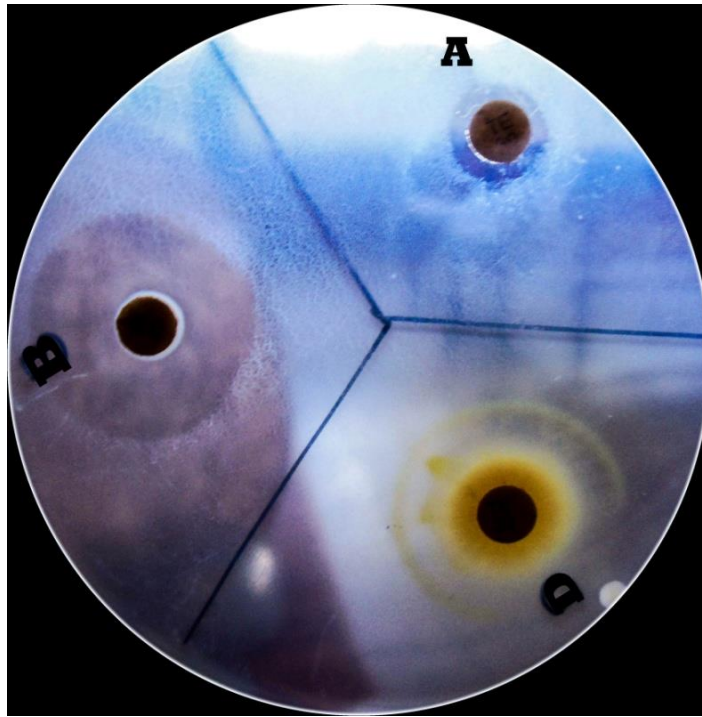
Fig.30 Esquema de la disposición de los discos en las placas petri



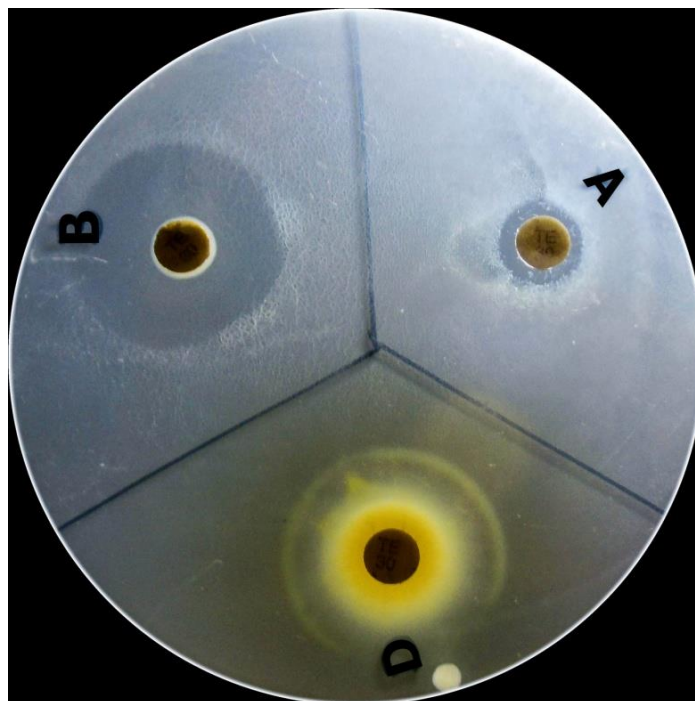
**Fig. 30** Placa petri a las 24 horas (A: Hipoclorito de Sodio, B: Gluconato de clorhexidina 2%, C: Extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 10%)



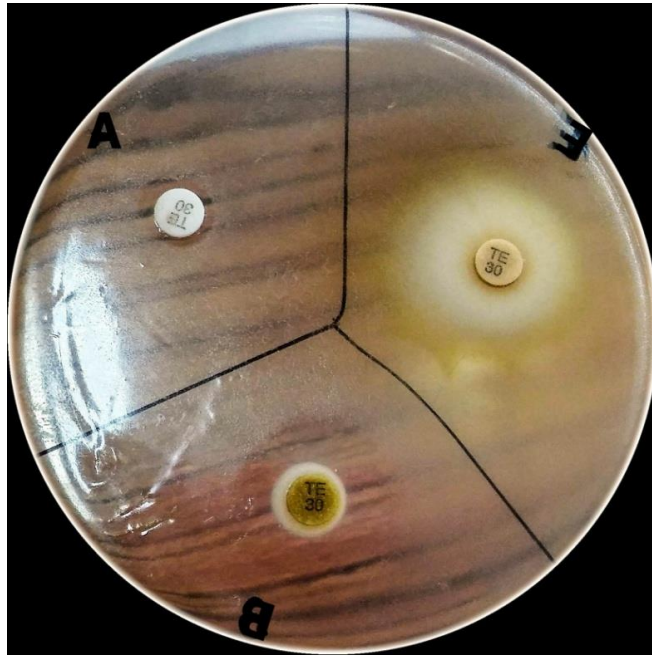
**Fig. 31** Placas petri a las 48 horas (A: Hipoclorito de Sodio, B: Gluconato de clorhexidina 2%, C: Extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 10%)



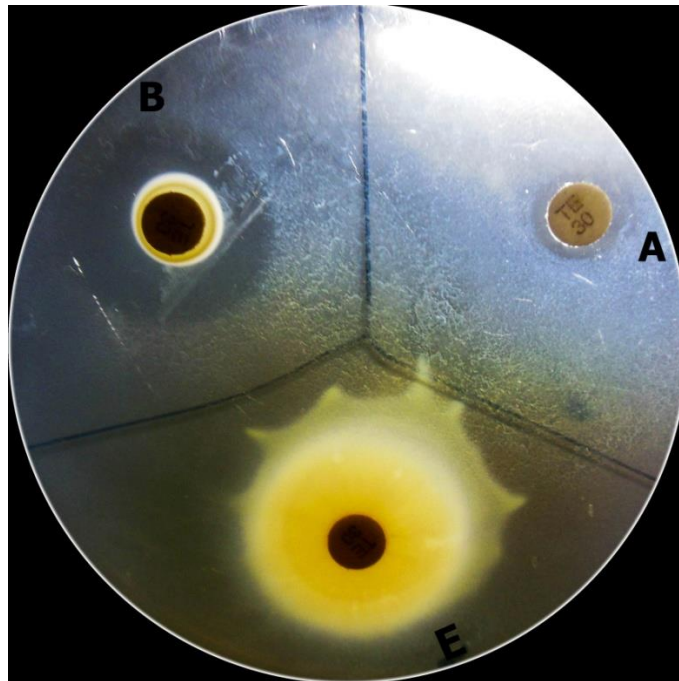
**Fig. 32** Placa petri a las 24 horas (A: Hipoclorito de Sodio, B: Gluconato de clorhexidina 2%, D: Extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 20%)



**Fig. 33** Placa petri a las 48 horas (A: Hipoclorito de Sodio, B: Gluconato de clorhexidina 2%, D: Extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 20%)

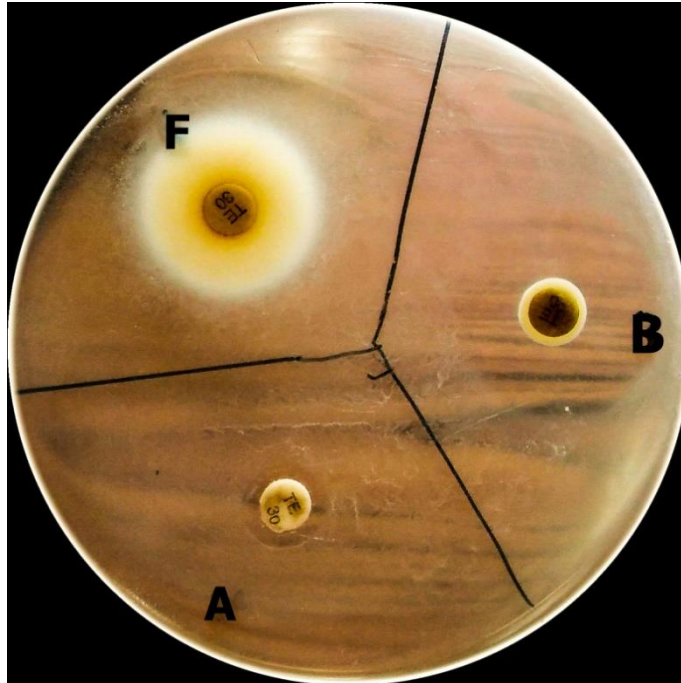


**Fig. 34** Placa petri a las 24 horas (A: Hipoclorito de Sodio, B: Gluconato de clorhexidina 2%, E: Extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 40%)

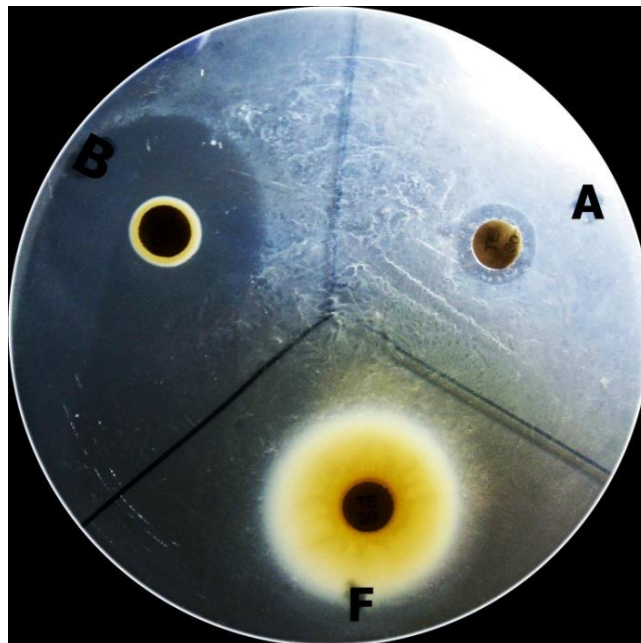


**Fig. 35** Placa petri a las 48 horas (A: Hipoclorito de Sodio, B: Gluconato de clorhexidina 2%, E: Extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 40%)





**Fig. 36** Placa petri a las 24 horas (A: Hipoclorito de Sodio, B: Gluconato de clorhexidina 2%, F: Extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 60%)



**Fig. 37** Placa petri a las 48 horas (A: Hipoclorito de Sodio, B: Gluconato de clorhexidina 2%, F: Extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 60%)