
UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO

FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA



TESIS:

**EFEECTO ANTIBACTERIANO DEL HIPOCLORITO DE SODIO AL 2.5% A
CAMBIOS DE TEMPERATURA ANTE EL *ENTEROCOCCUS FAECALIS*
ATCC29212 *IN VITRO***

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

AUTOR:

Bach. PAJUELO HERNÁNDEZ SANTOS WILLIAMS

ASESORA:

Dra. ESPINOZA SALCEDO MARÍA VICTORIA

COASESORA:

Dra. MEJÍA DELGADO ELVA MANUELA

TRUJILLO - 2015

DEDICATORIA

Dedico este logro a Dios por darme fuerzas en los momentos difíciles, a mis padres Genaro y Gloria por su constante apoyo y sabios consejos que me hicieron salir adelante a pesar de las adversidades y a mis hermanos Gabriel y Raúl por su amor incondicional.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por que fue la fuente de mi inspiración durante mis años de estudios, me vio caer y me brindo su mano amiga para levantarme y seguir a delante.

A mis padres porque nunca dejaron de confiar en mí, bien dicen que los hijos son el fiel retrato de los padres este logro es para ustedes, a mis hermanos porque a pesar de las pequeñas discusiones siempre me brindaron su cariño y su apoyo incondicional; a mis abuelos Santos, Adriana, Olinda y Prospero que me dieron fuerzas en espíritu para culminar este logro, a mi tía Delia por su cariño y comprensión y a Vania por su apoyo durante la ejecución de la investigación.

Un agradecimiento muy especial para mis asesoras por los conocimientos y confianza brindada.

Por ultimo quiero agradecer a los docentes que me brindaron su formación académica durante toda mi etapa universitaria.

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 2.5% a cambios de temperatura ante el *Enterococcus faecalis* ATCC29212 in vitro.

El estudio prospectivo, longitudinal, comparativo y experimental se desarrolló en el laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo e incluyó un total de 63 placas petri de las cuales correspondía 21 para cada grupo de estudio. Para determinar el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 2.5% a 40°C, 37°C y 30°C, se comparó medios de cultivo en placas petri aislados con el *Enterococcus faecalis* para determinar su eficacia, para la recolección de datos cada placa petri fue registrada con un código, comparando los grupos de estudio según el conteo de UFC.

Los resultados muestran que el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 2.5% a 40°C es más eficaz que a 37°C y 30°C ante el *Enterococcus faecalis* con una media de 0.000, un rango medio de 32.083 y una significancia de 0.025. Se concluyó que existe diferencias significativas entre el hipoclorito de sodio al 2.5% a temperaturas de 40°C, 37°C y 30°C frente al *Enterococcus faecalis*, siendo el de 40°C el que presentó mayor eficacia antibacteriana.

Palabras claves: hipoclorito de sodio, *enterococcus faecalis*, efecto antibacteriano

ABSTRACT

This assessment had as primary objective to determine the antibacterial effect of the hypochlorite of sodium at 2.5% against temperature changes of *Enterococcus faecalis* ATCC29212 in vitro.

The prospective, longitudinal, comparative and experimental analysis was developed in the Microbiology Lab of Trujillo's National University and it includes a total of 63 Petri plates from which 21 is established for each group of study. To determine the antibacterial effect of the hypochlorite of sodium at 2.5 % at 40°C, 37°C and 30°C, colonies were compared in Petri plates isolated with the *enterococcus faecalis* to determine his efficiency, for the compilation of information every Petri plate was registered by a code, comparing the study groups according to UFC's count.

The results show that the antibacterial effect of the hypochlorite of sodium at 2.5 % and 40°C is more effective than the one at 37°C and 30°C against the *enterococcus faecalis* with a count of 0.000, its average range is 32.083 and its significance is 0.025. I concluded that it really exists significant differences between the hypochlorite of sodium at 2.5 % at different temperatures from 40°C, 37°C and 30°C against the *enterococcus faecalis*, being the one at 40°C the one that presented the best antibacterial efficiency.

Key words: hypochlorite of sodium, *enterococcus faecalis*, antibacterial effect.

CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN	1
1. Formulación del problema.....	8
2. Hipótesis	8
3. Objetivos	9
III. DEL DISEÑO METODOLÓGICO.....	10
1. Material de estudio	10
2. Método, técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	13
3. Análisis estadístico de la información.....	18
III. RESULTADOS.....	19
IV. DISCUSIÓN.....	25
V. CONCLUSIONES	27
VI. RECOMENDACIONES	28
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
ANEXOS	34

MIEMBROS DEL JURADO

PRESIDENTE: C.D HUARCAYA LOPEZ JORGE LUIS

SECRETARIO: C.D ARIZOLA AGUADO ARMANDO ANTONIO

VOCAL: C.D LLANOS VERA VICTOR EDUARDO

I. INTRODUCCIÓN

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 lipoteicoico que se encuentra asociado con la membrana citoplasmática de la bacteria y que contiene residuos de glicerol.¹

Una característica notable de esta especie la constituye su capacidad para sobrevivir y crecer en microambientes que pudieran ser tóxicos para otras bacterias. La temperatura óptima de crecimiento in vitro de este microorganismo es de 35°C, no obstante, se ha observado crecimiento entre 10°C y 45°C. Todas las cepas pueden crecer en medios que contengan esculina, la cual hidrolizan en presencia de sales biliares al 40% (medio agar bilis-esculina). Casi todas las cepas son homofermentativas, siendo el ácido láctico el producto final.¹

Esta capacidad de resistencia en microambientes tóxicos, está relacionada con su capacidad de supervivencia en los conductos radiculares de dientes que han sido sometidos a tratamiento endodóntico. Causa infecciones muy

diversas y poseen un creciente interés en el caso de los procesos oportunistas. 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.¹

El hipoclorito de sodio es un líquido claro, pálido, verde amarillento, extremadamente alcalino y con fuerte olor clorino, que presenta una acción disolvente sobre el tejido necrótico y restos orgánicos y además es un potente agente antimicrobiano.² Químicamente, el NaOCl es una sal formada de la unión de dos compuestos químicos, el ácido hipocloroso y el hidróxido de sodio, que presenta como características principales sus propiedades oxidantes.³

El uso mundial del hipoclorito de sodio como solución irrigante intraconducto se debe a su eficacia para disolver tejido pulpar, actividad antimicrobiana y su aceptable compatibilidad biológica a bajas concentraciones.² Es excelente lubricante y blanqueador, posee una tensión superficial baja, una vida media de almacenamiento prolongada, su costo es bajo, su sabor es inaceptable por los pacientes, y por sí solo no remueve la capa de desecho, ya que solo actúa sobre la materia orgánica de la pulpa y predentina.³ Su potente eliminación bacteriana mejora la calidad de la

obtención, al permitir la penetración del material en los túbulos dentinarios abiertos.⁴

El hipoclorito de sodio viene siendo utilizado desde hace muchas décadas en diferentes concentraciones,⁵ sin embargo, hay discusión entre los autores en cuál es la más eficaz; a mayor dilución menor poder desinfectante pero también menor irritación, por lo que se recomienda diluir al 1%. Algunos autores han reportado que al elevar la temperatura de la solución de hipoclorito de sodio produce una disolución de los tejidos presentes en la región periapical más rápidamente.^{2, 6,7}

El hipoclorito de sodio elimina tejido vital y no vital, y por su amplio espectro antibacteriano, destruyendo rápidamente bacterias, esporas, hongos y virus, por otro lado los fracasos endodónticos se asocian con la presencia de diferentes bacterias anaerobias, siendo la principal causante el *Enterococcus faecalis* por su gran capacidad de sobrevivir en microambientes hace potente su permanencia en el conducto radicular por lo que se hace difícil su remoción por completo, ya que son capaces de resistir tanto las adversidades del medio como la constricción tubular y los procesos odontoblásticos, por ser capaces de replicarse y avanzar a los túbulos gracias a sus peculiares características fisiológicas y morfológicas⁸, no obstante a mayor

concentración y temperatura habrá mayor remoción de este microorganismo, que es uno de los causantes al fracaso endodóntico.³

La eficacia de la disolución del hipoclorito de sodio se ve influenciada por la integración estructural de los componentes del tejido conjuntivo de la pulpa. Si la pulpa está descompuesta, los restos de tejido blando se disuelven rápidamente. Si la pulpa es vital y hay poca degradación estructural, el hipoclorito de sodio necesita más tiempo para disolver los restos, por lo que se debe dejar un tiempo para conseguir la disolución de los tejidos por completo. La temperatura es un factor importante ya que si esta aumenta, la acción del hipoclorito de sodio incrementará de manera significativa⁶.

Gianluca y col⁶. (1998) evaluaron en 12 muestras de hipoclorito de sodio a 20 °C las cuales se calentaban cada 12 horas durante 30 minutos a 50 °C para medir el cloro remanente, pH y densidad a los 3, 7, 14, 21 y 30 días; se encontró que no hubo efecto adverso en la estabilidad química de la solución después de 30 días ya que el pH se mantuvo con una disminución mínima, la densidad no aumentó significativamente y la disminución de cloro en la solución fue baja. Concluyendo que el hipoclorito de sodio no pierde la buena estabilidad química, manteniendo las capacidades antimicrobianas y la disolución de tejidos debido a que al aumentar la temperatura se logra una

disminución de la tensión superficial del hipoclorito de sodio permitiendo que esta tenga mayor penetración en los tejidos.

Cunningham y col¹⁰ (1980) estudiaron la disolución de colágeno por acción del hipoclorito de sodio y verificaron que la temperatura potencia la acción del hipoclorito de sodio, observando también que era efectiva a temperatura ambiente. Piskin y Turkun demostraron que la alta temperatura de la solución de irrigación de hipoclorito de sodio tiene un efecto positivo aumentando su potencia ante el tejido necrótico de dientes de rata a 35.5 °C y a 60 °C.

Aboou¹⁰ (1981) y Moore¹⁰ (1982) evaluaron de la capacidad de disolución de tejido pulpar por parte del hipoclorito de sodio y notaron que la temperatura tenía gran influencia.

Lehninger¹⁰ (1990) por otro lado alertaron, que las altas temperaturas y los valores extremos de pH son factores que interfieren en forma positiva en la desnaturalización de las proteínas.

Siqueria y Col¹⁰ (2002) en otro estudio, evaluaron la estabilidad química del hipoclorito de sodio al 0.5% en función a la temperatura y tiempo, destacando que sus variaciones pueden sufrir alteraciones en su potencia.

Harrinson y col² (1990) evaluaron el efecto antimicrobiano del hipoclorito de sodio a 2,62% y 5,25% sobre las especies *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*, en periodos de 15 a 120 segundos. Después de 45 seg de exposición al hipoclorito de sodio al 5,25% y de 60 segundos de exposición al hipoclorito de sodio al 2,62% no hubo crecimiento de *Enterococcus faecalis*. La especie *Candida albicans* fue eliminada después de un período de 15 segundos de contacto con las soluciones. Cuando una solución de hipoclorito de sodio presenta porcentaje de cloro menor de 0,3% ésta no es efectiva contra *Candida albicans* y a los *Streptococcus faecalis*. En concentraciones de 0,5%, ellas son efectivas contra esos microorganismos en un tiempo de acción de 15 segundos.

Marques² (1997) evaluó la actividad antibacteriana de soluciones irrigadoras a base de clorexidina, hipoclorito de sodio al 1% y un detergente sobre los microorganismos: *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* y cultivo mixto del canal

radicular. Los resultados mostraron que el hipoclorito de sodio al 1% fue el único en presentar actividad sobre el *Enterococcus faecalis*.

Los diversos estudios han demostrado que uno de los microorganismos más difíciles de remover del conducto radicular es el *Enterococcus faecalis*, por lo cual este estudio puede orientar al profesional odontólogo a tomar medidas preventivas y emplear un nuevo método de desinfección y de esta manera eliminar el riesgo a una de las causas de fracasos endodónticos. Es por ello que el propósito del presente estudio fue comparar la eficacia antibacteriana del hipoclorito de sodio al 2.5% a 30°C, 37°C y a 40°C ante el *Enterococcus faecalis* ATCC29212 *in vitro*.

1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cuál es la diferencia del efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 2.5% a 30°C, 37°C y 40°C ante el *Enterococcus faecalis* ATCC29212 *in vitro*?

2. HIPOTESIS

El hipoclorito de sodio al 2.5% a 40°C produce un mejor efecto antibacteriano que a 37°C y 30°C ante el *Enterococcus faecalis* ATCC29212 *in vitro*.

3. OBJETIVOS

3.1. General

Comparar el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 2.5% a 30°C, 37°C y 40°C ante el *Enterococcus faecalis* ATCC29212 *in vitro*.

3.2. Específicos

- Determinar el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 2.5% a 30° C ante el *Enterococcus faecalis* ATCC29212 *in vitro*.

- Determinar el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 2.5% a 37°C ante el *Enterococcus faecalis* ATCC29212 *in vitro*.

- Determinar el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 2.5% a 40°C ante el *Enterococcus faecalis* ATCC29212 *in vitro*.

II. DISEÑO METODOLOGICO

1. MATERIAL DE ESTUDIO

1.1. Tipo de investigación

Según el periodo en que capta la información	Según la evolución del fenómeno estudiado	Según la comparación de poblaciones	Según la interferencia del investigador en el estudio
PROSPECTIVO	LONGITUDINAL	COMPARATIVO	EXPERIMENTAL

1.2. Área de estudio

El estudio se desarrolló en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo.

1.3. Definición de la población muestral

Estuvo constituido por 21 tubos de ensayo para cada grupo de estudio que contenían la cepa bacteriana de *Enterococcus faecalis* con el hipoclorito de sodio al 2.5% a 30°C, 37°C y 40°C; y también el mismo número de placas petri con agar soya tripticasa con la cepa bacteriana de *Enterococcus faecalis* y el hipoclorito de sodio al 2.5% sometidas a las mismas temperaturas,

procedentes del laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo.

1.3.1 Características generales

1.3.1.1. Criterios de inclusión

- Placa petri que contenga agar soya tripticasa libre de contaminación.
- Placas petri y tubo de ensayo que contengan las cepas bacterianas con hipoclorito de sodio al 2.5% a 30°C, 37°C y 40°C..

1.3.1.2. Criterios de eliminación

- Placa petri y tubos de ensayo conteniendo la macrodilución que sufra deterioro y/o contaminación durante la conservación y los procedimientos que no permitan su medición posterior.

1.3.2. Diseño estadístico de muestreo

1.3.2.1. Unidad de análisis

Tubo de ensayo que contenga la cepa bacteriana de *Enterococcus faecalis* con el hipoclorito de sodio al 2.5% a 30°C, 37°C y 40°C; y también la placas petri con agar soya tripticasa con la cepa bacteriana de *Enterococcus faecalis* y el hipoclorito de sodio al 2.5% sometidas a las mismas temperaturas.

1.3.2.2. Unidad de muestreo

Tubo de ensayo que contenga la cepa bacteriana de *Enterococcus fecalis* con el hipoclorito de sodio al 2.5% a 30°C, 37°C y 40°C; y también la placas petri con agar soya tripticasa con la cepa bacteriana de *Enterococcus fecalis* y el hipoclorito de sodio al 2.5% sometidas a las mismas temperaturas.

1.3.2.2. Tamaño de muestra

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta}) (P_1 Q_1 + P_2 Q_2)}{(P_1 - P_2)^2}$$

Dónde:

$$Z_{\alpha/2} = 1.96 \text{ para un } \alpha = 0.05$$

$$Z_{\beta} = 0.84 \text{ para un } \beta = 0.20$$

$$Q_1 = 1 - P_1 = 0.3$$

$$Q_2 = 1 - P_2 = 0.7$$

Remplazando:

$$n = \frac{(1.96 + 0.84)^2 (0.7 \times 0.3 + 0.3 \times 0.7)}{(0.7 - 0.3)^2} = 21 \text{ muestra}$$

1.3.2. Método de selección

La selección de la muestra se realizó a través de un método no probabilístico.

2. METODO, TÉCNICAS E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

2.1. Método

Experimental

2.2. Descripción del procedimiento

a) Aprobación del proyecto

Se solicitó la aprobación del anteproyecto de tesis a dirección de la Escuela de Estomatología.

b) Autorización para la ejecución

Se solicitó permiso para la ejecución del anteproyecto de tesis a dirección de la Escuela de Estomatología, una vez autorizado y revisado el anteproyecto de tesis por los asesores adjunto y temático.

c) Autorización para el uso de insumos

Se solicitó permiso al coordinador de curso de laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional para contar con su apoyo durante el tiempo que dure la realización del proyecto (ver anexo I).

d) Prueba piloto

Para obtener el tamaño de la muestra se realizó una prueba piloto con 10 tubos de ensayo para cada grupo de estudio con la cepa bacteriana: el *Enterococcus fecalis*, el hipoclorito de sodio al 2.5% a 30°C, 37°C y 40°C; y también el mismo número de placas petri con agar soya tripticasa, la cepa bacteriana de *Enterococcus fecalis* y el hipoclorito de sodio al 2.5% a sus correspondientes temperaturas. Posteriormente, realizándose: la determinación del efecto antibacteriano, siembre en placa, la incubación, el recuento de ufc y los controles a las 24 y 72 horas (ver anexo IV y V).

e) Calibración

Se realizó mediante el conteo del número de colonias bacterianas en las 5 placas petri en dos tiempos a las 24 y 72 horas, donde los resultados obtenidos por el investigador fueron comparados con los del experto Microbiólogo (ver anexo II y III)

2.2.1. Del tratamiento

2.1.1.1. Obtención de la muestra

La cepa bacteriana de *Enterococcus faecalis* fue obtenida del cepario del banco bacteriológico del laboratorio de Microbiología de facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional de Trujillo.

2.1.1.2. Preparación del inóculo

Obtenida la cepa, ésta se cultivó en tubos de ensayo cerrados herméticamente conteniendo el medio agar soya tripticasa, y se incubó bajo condiciones de micro anaerobiosis a 37°C con el fin de obtener colonias jóvenes. Luego de 24 horas se agregó caldo de tioglicolato, hasta obtener una turbidez semejante al tubo número 1 de la escala de Mac Farland. Los tubos que contienen las bacterias fueron girados entre las manos durante 30 segundos antes de proceder al sembrado para distribuir los microorganismos adecuadamente.

2.1.1.3. Determinación del efecto antibacteriano (prueba de susceptibilidad)

Para la prueba de susceptibilidad, se preparó la concentración del hipoclorito al 2.5% y se mantuvo a temperatura ambiente. Luego se prepararon a las

temperaturas de 30°C, 37°C y 40°C y solución salina estéril como grupo control.

Obtenidas las temperaturas se realizaron los cultivos en los tres grupos de estudio con el mismo número de tubos de ensayo que contenían 1 ml de hipoclorito de sodio al 2.5% a 30°C, 37°C y 40°C y el grupo control con solución salina estéril. Luego se adicionaron 0,2 ml de la cepa bacteriana: el *Enterococcus faecalis* en los tubos de ensayo de cada grupo de estudio con el objetivo de obtener colonias contables.

Los tubos de ensayo del grupo de 40 °C fueron llevados a baño maría por 24 horas hasta obtener dicha temperatura.

Los tubos de ensayo del grupo de 37 °C fueron incubados a 37 grados centígrados directamente en estufa .por 24 horas.

Los tubos de ensayo del grupo de 30 °C se mantuvieron a temperatura ambiente.

2.1.1.4. Siembra en placa

Se adiciono 0.1 ml de las diluciones en los tubos de ensayo preparadas anteriormente a las placas petri que contenían agar soya tripticasa, luego se procedió a extender la muestra en todas las direcciones con ayuda de la

espátula Driglasky previamente esterilizada, hasta que esté completamente seca.

2.1.1.5. Incubación

Se incubaron las placas petri en posición invertida, a la temperatura de 37°C por 24 horas en condiciones de microanaerobiosis.

2.1.1.6. Recuento de unidades formadoras de colonias de cada muestra

Tras el periodo de incubación se examinaron las placas petri. Se determinó mediante el método del conteo, utilizando una cámara contadora de colonias. (Brock y Madigam, 1991).

2.1.1.7. Control

Se realizaron las mediciones de placa Petri a las 24 y 72 horas.

2.4. Variables:

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL (INDICADORES)	TIPO		ESCALA DE MEDICIÓN
			SEGÚN SU NATURALEZA	SEGÚN SU FUNCIÓN	
Hipoclorito de Sodio al 2.5%	Es un líquido claro, pálido, verde amarillento, extremadamente alcalino, que presenta una acción disolvente sobre el tejido necrótico y restos orgánicos y además es un potente agente antimicrobiano ² .	Temperaturas: <ul style="list-style-type: none"> • 30 °C • 37 °C • 40 °C 	Cualitativa	Independiente	Ordinal
Efecto antibacteriano ante el <i>Enterococcus fecalis</i>	Es una bacteria en forma de coco, Gram positiva, anaerobia facultativa, inmóvil y no esporulada ¹ .	Efectividad según el conteo de UFC: <ul style="list-style-type: none"> a) Muy alta:(0 ufc/ml) b) Alta:(Menos de 10³ ufc/ml) c) Moderada:(10³– 10⁵ ufc/ml) d) Baja: (10⁶ – 10⁸ ufc/ml) e) Muy baja: (más de 10⁸ ufc/ml) ² Según el tiempo: <ul style="list-style-type: none"> a) 24 horas b) 72 horas 	Catagórica	Dependiente	Ordinal

3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA INFORMACIÓN

Para analizar la información se hizo uso del paquete SPSS VS 18 con el cual se construyeron cuadros de distribución de frecuencia de 1 y doble entrada con sus valores absolutos y relativos.

Para determinar el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 2.5% a cambios de temperatura ante el *Enterococcus faecalis* se empleó la prueba no paramétrica de independencia de categoría utilizando la distribución χ^2 con un nivel de significancia del 5%.

III. RESULTADOS

El presente estudio tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 2.5% a cambios de temperatura ante el *Enterococcus faecalis* ATCC29212 in vitro. La muestra estuvo constituida por 63 placas petri con la cepa bacteriana, de las cuales pertenecían 21 placas petri para el hipoclorito de sodio a 40°C, 21 placas petri para el hipoclorito de sodio a 37°C y 21 placas petri para el hipoclorito de sodio a 30°C, obteniéndose los siguientes resultados:

Se determinó que con respecto a las muestras de hipoclorito de sodio al 2.5% a 40°C tenemos que el 100% de las muestras presentaron un efecto antibacteriano ante el *Entreccocus faecalis* ATCC29212 en el nivel muy alta, y el resto de las categorías no se observó efecto antibacteriano (tabla N°1).

En las muestras de hipoclorito de sodio al 2.5% a 37°C tenemos que el 90.5% de las muestras presentaron un efecto antibacteriano ante el *Entreccocus faecalis* ATCC29212 en el nivel muy alta, el 9.5% en el nivel alta y el resto de las categorías no se observó efecto antibacteriano (tabla N°2).

También se observó que en las muestras de hipoclorito de sodio al 2.5% a 30°C tenemos que el 61.9% de las muestras presentaron un efecto antibacteriano ante el *Entreccocus faecalis* ATCC29212 en el nivel muy alta,

el 28.6% en el nivel alta, y un 9.5% en el nivel de muy baja y en el resto de categorías no se observó efecto antibacteriano (tabla N°3).

Por otra parte, se determinó que con respecto al efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 2.5% ante el *Entreccocus faecalis* ATCC29212; las comparaciones presentan diferencias significativas ($p= 0.0114 < 0.05$); y esto lo observamos porque las muestras tratadas a 40°C presentaron un mejor nivel en comparación con las muestras tratadas a 37°C y a 30°C (tabla N°4).

TABLA N°1

Distribución porcentual por niveles de las muestras de hipoclorito de sodio al 2.5% a 40°C de temperatura ante el *Enterococcus faecalis* ATCC29212 *in vitro*.

<i>Niveles</i>	<i>f</i>	<i>%</i>
MUY ALTA	21	100.0
ALTA	0	0.0
MODERADA	0	0.0
BAJA	0	0.0
MUY BAJA	0	0.0
TOTAL	21	100.0

TABLA N°2

Distribución porcentual por niveles de las muestras de hipoclorito de sodio al 2.5% a 37°C de temperatura ante el *Enterococcus faecalis* ATCC29212 *in vitro*.

<i>Niveles</i>	<i>f</i>	<i>%</i>
MUY ALTA	19	90.5
ALTA	2	9.5
MODERADA	0	0.0
BAJA	0	0.0
MUY BAJA	0	0.0
TOTAL	21	100.0

TABLA N°3

Distribución porcentual por niveles de las muestras de hipoclorito de sodio al 2.5% a 30°C de temperatura ante el *Enterococcus faecalis* ATCC29212 *in vitro*.

<i>Niveles</i>	<i>F</i>	<i>%</i>
MUY ALTA	13	61.9
ALTA	6	28.6
MODERADA	0	0.0
BAJA	0	0.0
MUY BAJA	2	9.5
TOTAL	21	100.0

TABLA N°4

Distribución porcentual por niveles de las muestras de hipoclorito de sodio al 2.5% a 40°C, 37°C y 30°C de temperatura ante el *Enterococcus faecalis* ATCC29212. In Vitro

<i>Niveles</i>	40°C		37°C		30°C	
	<i>f</i>	%	<i>F</i>	%	<i>f</i>	%
MUY ALTA	21	100.0	19	90.5	13	61.9
ALTA	0	0.0	2	9.5	6	28.6
MUY BAJA	0	0	0	0	2	9.5
TOTAL	21	100	21	100	21	100

$\chi^2 = 12.98$ $p = 0.0114$

IV. DISCUSIÓN

El presente estudio tuvo como objetivo determinar el efecto efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 2.5% a cambios de temperatura ante el *Enterococcus faecalis* ATCC29212 *in vitro*.

Diversos estudios han demostrado que uno de los microorganismo más difícil de remover luego de la irrigación del conducto radicular en una obturación endodóntica es el *Enterococcus faecalis*.

Los resultados en el presente estudio nos muestran que el hipoclorito de sodio al 2.5% a 40°C presenta un efecto antibacteriano muy alta ante el *Enterococcus faecalis* con una significancia de ($p= 0.0114 < 0.05$), presentando un mejor efecto en comparación con las muestras tratadas a 37°C y a 30°C.

De acuerdo a la metodología utilizada y según los resultados obtenidos en el presente estudio podemos confirmar la hipótesis planteada, pues el hipoclorito de sodio al 2.5% a 40°C presenta un mejor efecto antibacteriano ante el *Enterococcus faecalis*, que a 37°C y a 30°C.

Dicha diferencia estadísticamente significativa es consecuencia debido al mayor efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 2.5% a 40°C ante el *Enterococcus faecalis*.

Los resultados obtenidos en esta investigación, se correlacionan con los hallazgos de tres estudios previos, el primero realizado por Gianluca (1998), el segundo por Cunningham (1980), y el tercero por Marques (1997). En base a los resultados obtenidos en aquellos estudios es que se puede establecer que el hipoclorito de sodio presenta actividad antibacteriana ante el *Enterococcus faecalis*, y que el hipoclorito de sodio a cambios de temperatura no pierde la buena estabilidad química manteniendo su capacidad antibacteriana y además su acción.

En virtud de las condiciones en que se desarrolló la presente investigación, los resultados obtenidos y estudios previos de respaldo es que el hipoclorito de sodio a cambios de temperatura es capaz de eliminar al *Enterococcus faecalis*, traduciéndose en muy alta el efecto antibacteriano.

V. CONCLUSIONES

En el presente estudio sobre el Efecto del hipoclorito de sodio al 2.5% a cambios de temperatura ante el *Enterococcus faecalis* ATCC29212 *in vitro*, de acuerdo a la metodología utilizada y los resultados obtenidos, se puede concluir lo siguiente:

- El hipoclorito de sodio al 2.5% a 40°C presenta un mejor efecto antibacteriano ante el *Enterococcus faecalis* ATCC29212 *in vitro*, que a 37°C y a 30°C.
- El hipoclorito de sodio al 2.5% a 30°C produjo un efecto antibacteriano ante el *Enterococcus faecalis* ATCC29212 *in vitro*.
- El hipoclorito de sodio al 2.5% a 37°C produjo un efecto antibacteriano ante el *Enterococcus faecalis* ATCC29212 *in vitro*
- El hipoclorito de sodio al 2.5% a 40°C produjo un efecto antibacteriano ante el *Enterococcus faecalis* ATCC29212 *in vitro*

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar un estudio más amplio con más temperaturas del hipoclorito de sodio y otras bacterias que interfieran en los tratamientos odontológicos donde haya mediciones más detalladas sometidas a pruebas de laboratorio que pudiesen simular lo más parecido a condiciones en boca.
- Se sugiere realizar más estudios para evaluar las propiedades químicas del hipoclorito de sodio luego de ser calentado y observar si se ve afectado su efecto antibacteriano.
- Difundir la importancia del conocimiento de más alternativas para la desinfección bacteriana en la irrigación del conducto radicular en tratamientos endodónticos que resulten más eficientes y menos tóxico produciendo una satisfacción y ganancia tanto para el paciente como para el cirujano dentista.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Pardi G, Guiliarte Cardozo EI, Briceño EN. Detección de enterococcus faecalis en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico. Acta odontol. venez, mar. 2009, vol.47, no.1, p.110-121. ISSN 0001-6365. Disponible en: www.actaodontologica.com.
2. Santos EA, Salcedo MD. Efectividad antibacteriana del gluconato de clorhexidina al 0.12% y el hipoclorito de sodio al 2.5% como soluciones antisépticas del conducto radicular. Universidad nacional mayor de san marcos. Peru. Lima. 2003. Disponible en <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/2795>.
3. Costa SR, Gasparini DO, Valsecia ME. Farmacovigilancia. Reacciones adversas producidas por hipoclorito de sodio utilizado como irrigante en endodoncia. Centro Regional de Farmacovigilancia. Cátedra de Farmacología- Facultad de Medicina – UNNE. Disponible en <http://www.agentia.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/com2004/3-Medicina/M-091.pdf>.
4. Olmos FJ, Carril MA, Saguir S, García RA. Limpieza de las paredes del conducto usando una combinación de hipoclorito de sodio 2,5% - ácido

cítrico 10% y clorhexidina 2% - ácido cítrico 10%. *Endodoncia* 2009; 27 (Nº 2):63-67. Disponible en <http://www.medlinedental.com/pdf-doc/endo/v27-2-3.pdf>.

5. Fournier AA. Efecto del hipoclorito de sodio al 2.5% y 5.25% sobre los tejidos periapicales: estudio in vivo. [Tesis para optar al grado de bachiller], Lima: Universidad Mayor de San Marcos; 2003. Disponible: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/2779>

6. Bobbio AS. Soluciones irrigantes en endodoncia. [Tesis para optar al grado de cirujano dentista], Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2009. Disponible en: [http://www.tvcop.org.pe/bib/investigacionbibliografica/SANDRAVANESSA BOBBIOABAD.pdf](http://www.tvcop.org.pe/bib/investigacionbibliografica/SANDRAVANESSA%20BOBBIOABAD.pdf)

7. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J Endod.* 2006; 3(2): 93 – 98. Disponible en: [http://www.jendodon.com/article/S0099-2399\(05\)00093-2/abstract?cc=y](http://www.jendodon.com/article/S0099-2399(05)00093-2/abstract?cc=y)

8. Correa PS, Ocampo GE, David OJ. Efectividad antimicrobiana del digluconato de clorhexidina al 0.2% y del clorhidrato de bencidamina al 0.15%, usados como irrigantes intraconducto contra enterococcus faecalis. [Tesis para optar al grado de bachiller], Medellin:Instituto Colombiano de Medicina Tropical; 2007. Disponible: <http://bdigital.ces.edu.co:8080/repositorio/handle/10946/996>

9. Gambarini G, De Luca M, Gerosa R. Chemical stability of heated sodium hypochlorite endodontic irrigants. J Endod. 1998; 24(6): 432-4. Disponible en: [http://www.jendodon.com/article/S0099-2399\(98\)80027-7/abstract](http://www.jendodon.com/article/S0099-2399(98)80027-7/abstract)

10. Mario RL. Endodoncia: tratamiento de conductos radiculares – principios técnicos y biológicos. 2da ed. Sao Pablo: Artes medicas latinoamericana; 2005

11. Gursoy UK, Bostanci V, Kosger HH. Palatal mucosa because of accidental sodium hypochlorite injection instead of anaesthetic solution. Int Endod J. 2006; 39: 157-61. Disponible en <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2591.2006.01067.x/abstract;jsessionid=C5D462EF2DD366D6B1068CBE2CD5B09F.f03t02?deniedAccessCustomisedMessage=&userIsAuthenticated=false>

12. Cunningham WT, Balekjian AY. Effect of temperatura on collagen-dissolvin ability of sodium hypochorite endodontic irrigant. Oral Surgery, Oral medicine, Oral pathology. 1980, 49(2): 175-177. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0030422080903138>
13. Sirtes G, Waltimo T, Schaetzle M, Zbnder M. The effect of temperature on sdiium hypochlorite short – term stability, pulp dissolution capacity, and antimicrobial efficacy. J Endod 2005; 31(9): 669 – 71. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239906610686>
14. Stojcic S, Zivkovic S, Qian W, Zbang H, Haapasalo M. Tissue dissolution by sodium hypochlorite: effect of concentration, temperature, agitation and surfactant. Journal of endodontics. 2010; 36(9): 1558-1562. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239910005248>
15. Abou-Rass M, Oglesby SW. The effects of temperature, concentration, and tissue type on the solvent ability of sodium hypochlorite. Journal of endodontics. 1981; 36(8): 376-377. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239981800593>
16. Gome BP, Ferraz CC, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium

hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *International Endodontic Journal*. 2001; 34(6): 424-428. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2591.2001.00410.x/abstract?deniedAccessCustomisedMessage=&userIsAuthenticated=false>

17. Serper A, Ozbek M, Calt S. Accidental sodium hypochlorite-induced skin injury during endodontic treatment. *Journal Endodontic*. 2004; 30(3): 180-181. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239905603160>

18. Lima MM. *Endodoncia: de la biología a la técnica*. 1era ed. Caracas: Amolca; 2009.

ANEXOS

ANEXO I

SOLICITO: USO DE INSUMOS DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA
EN LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNT

Dra. ELVA MANUELA MEJIA DELGADO

JEFA DEL SERVICIO DE MICROBIOLOGIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE UNIVERSIDAD
NACIONAL DE TRUJILLO

S.D.:

Yo, Santos Williams Pajuelo Hernández, bachiller en Estomatología de la Escuela Profesional de Estomatología de la Universidad Privada Antenor Orrego, identificado con ID 000072624, ante Ud. Me presento y expongo:

Que siendo requisito indispensable para poder optar el título profesional de Cirujano Dentista, la sustentación de tesis, recurso a su despacho a fin de que se apruebe el permiso para la realización de mi proyecto de tesis titulado: **“Efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 2.5% a cambios de temperatura ante el *Enterococcus faecalis* ATCC29212 *in vitro*.”**, motivo por el cual se me facilite el permiso del uso del laboratorio, materiales y equipos necesarios de microbiología de la Facultad de medicina de la Universidad Nacional de Trujillo.

Trujillo, 28 de noviembre del 2014

Dra. ELVA MANUELA MEJIA DELGADO

ANEXO II

CALIBRACIÓN

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONOR ORREGO

FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

Escuela de Estomatología

Efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 2.5% a cambios de temperatura ante el *Enterococcus faecalis* ATCC29212 *in vitro*.

24 HORAS	INVESTIGADOR N° DE COLONIAS	COASESOR N° DE COLONIAS
M1	0	0
M2	0	0
M3	0	0
M4	0	0
M5	0	0

Resultado: No se observó margen de error

72 HORAS	INVESTIGADOR N° DE COLONIAS	COASESOR N° DE COLONIAS
M1	5	5
M2	1	0
M3	0	0
M4	8	8
M5	7	7

Resultado: Se observó un margen de error en la M2

ANEXO III

CALIBRACIÓN

INDICE DE KAPPA

TABLA DE CONTINGENCIA OBS1 * OBS2

			OBS2				Total
			,00	<u>5,00</u>	<u>7,00</u>	<u>8,00</u>	
OBS1	,00	Recuento % del total	6 60,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	6 60,0%
	1,00	Recuento % del total	1 10,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	1 10,0%
	5,00	Recuento % del total	0 0,0%	1 10,0%	0 0,0%	0 0,0%	1 10,0%
	7,00	Recuento % del total	0 0,0%	0 0,0%	1 10,0%	0 0,0%	1 10,0%
	8,00	Recuento % del total	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	1 10,0%	1 10,0%
	total			7 70,0%	1 10,0%	1 10,0%	1 10,0%

Medidas simétricas

	Valor	Error tip. Asint. ^a	T aproximada ^b	Sig. aproximada
Medida de acuerdo kappa	0,818	,170	4,489	0,00000007
Número de casos validos	10			

a. Asumiendo la hipótesis alternativa

SE ACEPTA QUE HAY BASTANTE CONCORDANCIA ENTRE LOS 2 EVALUADORES (P<0.01)

ANEXO IV

TRABAJO PILOTO

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONOR ORREGO

FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

Escuela de Estomatología

Efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 2.5% a cambios de temperatura ante el *Enterococcus faecalis* ATCC29212 *in vitro*.

24 HRS	30 °C					37 °C					40 °C				
	MA	A	M	B	MB	MA	A	M	B	MB	MA	A	M	B	MB
1	X					X					X				
2	X					X					X				
3	X					X					X				
4	X					X					X				
5	X					X					X				
6	X					X					X				
7	X					X					X				
8	X					X					X				
9	X					X					X				
10	X					X					X				

Resultado: No hubo crecimiento bacteriano

ANEXO V

TRABAJO PILOTO

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONOR ORREGO

FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

Escuela de Estomatología

Efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 2.5% a cambios de temperatura ante el *Enterococcus faecalis* ATCC29212 *in vitro*.

72 HRS	30 °C					37 °C					40 °C				
	MA	A	M	B	MB	MA	A	M	B	MB	MA	A	M	B	MB
1		X					X				X				
2	X					X						X			
3	X					X					X				
4		X					X				X				
5		X				X					X				
6			X					X			X				
7	X					X					X				
8			X			X					X				
9		X				X					X				
10		X				X					X				

Resultado: Se observó crecimiento en 7 placas petri de 30°C, 3 de 37°C y 1 de 40°C

ANEXO VI

EJECUCIÓN

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONOR ORREGO

FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

Escuela de Estomatología

Efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 2.5% a cambios de temperatura ante el *Enterococcus faecalis* ATCC29212 *in vitro*.

24 HRS	30 °C					37 °C					40 °C				
	MA	A	M	B	MB	MA	A	M	B	MB	MA	A	M	B	MB
1	X					X					X				
2	X					X					X				
3	X					X					X				
4	X					X					X				
5	X					X					X				
6	X					X					X				
7	X					X					X				
8	X					X					X				
9	X					X					X				
10	X					X					X				
24 HRS	30 °C					37 °C					40 °C				
	MA	A	M	B	MB	MA	A	M	B	MB	MA	A	M	B	MB
11	X					X					X				
12	X					X					X				
13	X					X					X				
14	X					X					X				

15	X					X					X				
16	X					X					X				
17	X					X					X				
18	X					X					X				
19	X					X					X				
20	X					X					X				
21	X					X					X				
C	X					X					X				

Resultados: No hubo crecimiento bacteriano

ANEXO VII

EJECUCIÓN

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONOR ORREGO

FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

Escuela de Estomatología

Efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 2.5% a cambios de temperatura ante el *Enterococcus faecalis* ATCC29212 *in vitro*.

72 HRS	30 °C					37 °C					40 °C				
	MA	A	M	B	MB	MA	A	M	B	MB	MA	A	M	B	MB
1		X				X					X				
2	X					X					X				
3		X				X					X				
4					X	X					X				
5		X				X					X				
6		X				X					X				
7		X					X				X				
8		X				X					X				
9	X					X					X				
10	X					X					X				
72 HRS	30 °C					37 °C					40 °C				
	MA	A	M	B	MB	MA	A	M	B	MB	MA	A	M	B	MB
11	X					X					X				
12	X					X					X				
13	X						X				X				
14	X					X					X				

15	X					X					X				
16	X					X					X				
17	X					X					X				
18	X					X					X				
19					X	X					X				
20	X					X					X				
21	X					X					X				
C					X					X					X

Resultados: Se observó crecimiento bacteriano en 8 placas petri de 30°C, 2 en 37°C y 0 en 40°C, concluyendo que el hipoclorito de sodio al 2.5% a 40°C presenta un mejor efecto antibacteriano ante el *Enterococcus faecalis*.

ANEXO VIII

Preparación del inóculo



Enterococcus faecalis con una turbidez semejante al tubo 1 del Nefelómetro de Mc Farland.

Determinación del efecto antibacteriano



Tubos de ensayo con hipoclorito de sodio al 2.5% a 40°C, 37°C y 30°C



Adición de 0.2 ml de la cepa a cada grupo de estudio



Grupo de tubos de ensayo colocados en baño maria a 40°C.



Grupo de tubos de ensayo colocados en la estufa a 37°C.



Grupo de tubos de ensayo colocados a temperatura de ambiente a 30°C.

Siembra en placa



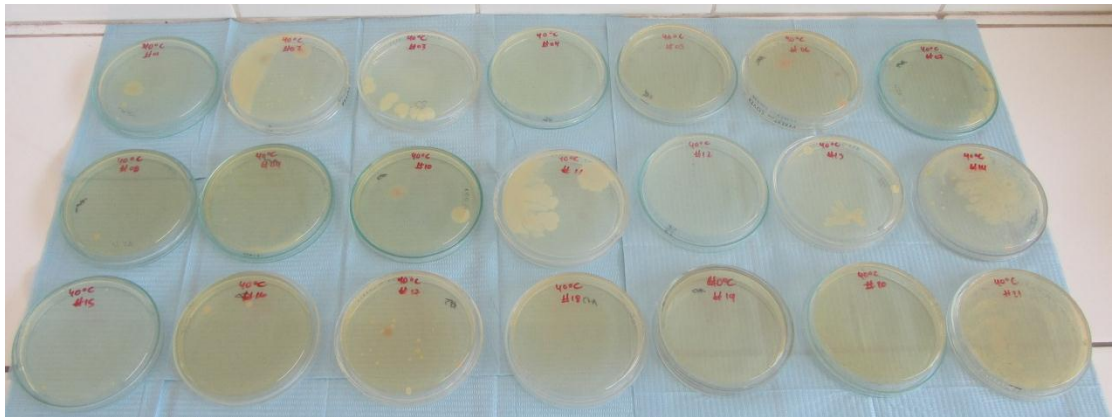
Adición de 0.1 ml del hipoclorito de sodio a 2.5% en sus diferentes temperaturas en su correspondiente placa petri contenidos en agar soya tripticaasa.

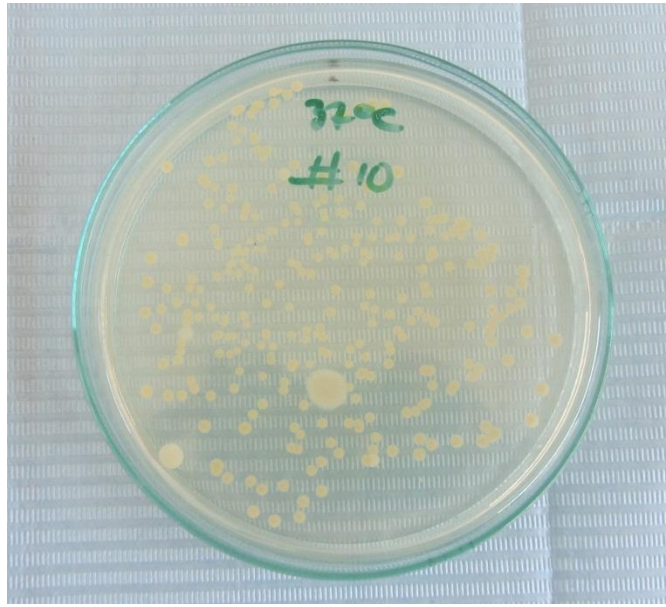


Extensión de la muestra en todas las direcciones con la espátula Driglasky



Incubación de las placas petri en posición invertida a 37°C por 24 horas.





Recuento de UFC de cada muestra.