

**UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**CIENCIAS DE LA SALUD**



**EFFECTO ANTIBACTERIANO IN-VITRO DEL AGUA BIDEUTILADA  
OZONIZADA SOBRE EL ENTEROCOCCUS FAECALIS**

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: CIENCIAS DE LA SALUD**

**SUBLINEA DE INVESTIGACIÓN: POLÍTICAS DE SALUD,  
SERVICIOS DE SALUD**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE**

**DOCTOR EN CIENCIAS DE LA SALUD**

**TESISTA: TIPIAN TASAYCO MARTIN WILFREDO**

**ASESOR: DR. ESTEBAN RIVERA EDWIN ROGER**

**HUÁNUCO – PERÚ**

**2023**

## **DEDICATORIA**

Para mi amado padre, timón de mi vida y que, gracias a su esfuerzo y sacrificio fue el apoyo necesario para mi formación como persona y profesional. Mi gran ejemplo de superación y que día a día me sigue sorprendiendo.

Para mi bellísima madre, trascendental impulsadora de mi carrera, inculcando valores y sentimientos positivos que me llevaron a ser lo que soy hoy, poniendo en práctica cada uno de sus consejos y esperando ser orgullo tuyo y de pito.

A mis amados hijos Beyi, Nea, Quistis y Quemini motores y motivo de mi vida y que solo mi amor por Uds. me hace intentar ser mejor cada día, que las veces que sentí desfallecer, derrumbarme o caer fueron los que me levantaron con sus caritas, sonrisas, palabras, esto es para Uds.

A mi esposa que con su constante ayuda motivó y empujó el coche para llegar a finalizar esta “aventura” que costó mucho pero que llegó a buen puerto.

A mis hermanos, mis amados que con sus palabras y oraciones pudieron ser el soporte espiritual y moral a mi vida.

A mi padre celestial, no por ponerlo de último sea el menos importante, sabes que eres el primero en mi vida y que solo Tú me sacaste y me llevaste a donde estoy, juntos caminamos por muchos años y pasamos muchas aventuras, gracias papito

## **AGRADECIMIENTO**

Al creador y hacedor de todo, al que midió las aguas con el hueso de su mano y los cielos con su palmo, con tres dedos junto el polvo de la tierra...

A mi familia amada, gracias por estar allí, sin Uds. No lo hubiese podido lograr.

A mi asesor Dr. Edwin Roger Esteban Rivera que con su gran conocimiento y sus sabios consejos pudo ser el pilar en el desarrollo de esta tesis, que tuvo bastante recorrido pero que se llegó a concluir de manera satisfactoria.

A todas las personas que de una u otra manera ayudaron en la culminación de esta tesis, solo queda decir ¡Gracias totales!

## RESUMEN

En este estudio se estableció el efecto antibacteriano in-vitro del agua bidestilada ozonizada sobre el *Enterococcus Faecalis*, el objetivo del presente estudio fue determinar la eficacia del agua bidestilada a diferentes concentraciones 1, 15 y 30 minutos en la inhibición de la curva de crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212, obtenida del laboratorio Microbiológicos<sup>®</sup>, mediante GenLab del Perú SAC e incubado en un medio de cultivo caldo BHI (Brain Heart Infusion) y Agar Müeller-Hinton enriquecido en sangre, el cual fue expuesto por 2, 4 y 6 minutos. La concentración del agua bidestilada se realizó con un equipo de ozono medico a efecto máximo de 92,5 microgramos (ug). Se evaluaron 25 muestras, repartidas en grupos de la siguiente manera: 5 muestras con *Enterococcus Faecalis* y Agua ozonizada a concentración de 1 minuto, 5 muestras con *Enterococcus Faecalis* y Agua ozonizada a concentración de 15 minuto, 5 muestras con *Enterococcus Faecalis* y Agua ozonizada a concentración de 30 minuto, 5 muestras con *Enterococcus Faecalis* e Hipoclorito de sodio al 2,5% (control positivo) y 5 muestras con agua caldo BHI sin ozono (control negativo), a una temperatura de 37 °C, Cabe señalar que en todos los grupos se realizó la lectura de la muestra a los dos, cuatro y seis minutos después de haberse inoculado el agua ozonizada e incubado por 24 horas. Se obtuvo como resultado que, el agua bidestilada ozonizada tiene efecto inhibitorio sobre la curva de crecimiento del *Enterococcus Faecalis*, se puede afirmar que a mayor tiempo de exposición del agua bidestilada ozonizada sobre el microorganismo mayor será el efecto antibacteriano inhibiendo su curva de crecimiento, existiendo rangos de absorbancia que van de 0.0018 a 0.0851 a favor del Isodine, mientras que los rangos de valores de absorbancia a favor del agua bidestilada ozonizada van de 0.0001314 a 0.00419, corroborando lo dicho anteriormente.

**Palabras claves:** Ozono, *Enterococcus Faecalis*, inhibición.

## ABSTRACT

In this study, the in-vitro antibacterial effect of ozonated bidistilled water on *Enterococcus Faecalis* was established, the objective of this study was to determine the efficacy of bidistilled water at different concentrations at 1, 15 and 30 minutes in the inhibition of the growth curve of *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212, obtained from the Microbiológicos® laboratory, through GenLab del Perú SAC and incubated in a BHI (Brain Heart Infusion) broth culture medium and Müeller-Hinton Agar enriched in blood which was exposed for 2, 4 and 6 minutes. The concentration of bidistilled water was carried out with a medical ozone equipment with a maximum effect of 92.5 micrograms (ug). 25 samples were evaluated, divided into groups as follows: 5 samples with *Enterococcus Faecalis* and Ozonized Water at a concentration of 1 minute, 5 samples with *Enterococcus Faecalis* and Ozonized Water at a concentration of 15 minutes, 5 samples with *Enterococcus Faecalis* and Ozonized Water at a concentration of 30 minutes, 5 samples with *Enterococcus Faecalis* and Hypochlorite 2.5% sodium (positive control) and 5 samples with BHI broth water without ozone (negative control), at a temperature of 37 °C, It should be noted that in all groups the sample was read two, four and six minutes after the ozonated water had been inoculated and incubated for 24 hours. It was obtained as a result that ozonated bidistilled water has an inhibitory effect on the growth curve of *Enterococcus Faecalis*, it can be affirmed that the longer the ozonated bidistilled water is exposed to the microorganism, the greater the antibacterial effect will be, inhibiting its growth curve, there are absorbance ranges that go from 0.0018 to 0.0851 in favor of Isodine, while the absorbance value ranges in favor of ozonated bidistilled water go from 0.0001314 to 0.00419, corroborating what was previously said.

**Keywords:** Ozone, *Enterococcus Faecalis*, inhibition.

## RESUMO

Neste estudo foi estabelecido o efeito antibacteriano *in vitro* da água ozonizada bidestilada sobre *Enterococcus Faecalis*, o objetivo do presente estudo foi determinar a eficácia da água duplamente destilada em diferentes concentrações 1, 15 e 30 minutos na inibição da curva de crescimento de *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212, obtido do laboratório Microbiológicos®, pelo GenLab del Perú SAC e incubado em meio de cultura de caldo BHI (Brain Heart Infusion) e Agar Müeller-Hinton enriquecido em sangue, que foi exposto durante 2, 4 e 6 minutos. A concentração de água duplamente destilada foi realizada com um equipamento médico de ozônio com efeito máximo de 92,5 microgramas (ug). Foram avaliadas 25 amostras, divididas em grupos: 5 amostras com *Enterococcus Faecalis* e Água Ozonizada na concentração de 1 minuto, 5 amostras com *Enterococcus Faecalis* e Água Ozonizada na concentração de 15 minutos, 5 amostras com *Enterococcus Faecalis* e Água Ozonizada na concentração de 30 minutos, 5 amostras com *Enterococcus Faecalis* e Hipoclorito de sódio 2,5% (controle positivo) e 5 amostras com água caldo BHI sem ozônio (controle negativo), a uma temperatura de 37 °C, deve-se notar que em todos os grupos a amostra foi lida aos dois, quatro e seis minutos após a água ozonizada ser inoculada e incubada por 24 horas. Obteve-se como resultado que, a água ozonizada duplamente destilada tem efeito inibitório na curva de crescimento de *Enterococcus Faecalis*, pode-se dizer que quanto maior o tempo de exposição da água ozonizada duplamente destilada sobre o microrganismo, maior o efeito antibacteriano inibindo sua curva de crescimento, existem intervalos de absorvância que variam de 0,0018 a 0,0851 a favor da isodina, enquanto os intervalos de valores de absorvância a favor da água ozonizada duplamente destilada variam de 0,0001314 a 0,00419, corroborando o exposto.

**Palavras chaves:** Ozônio, *Enterococcus Faecalis*, inibição.

## ÍNDICE

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO .....	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	v
RESUMO .....	vi
INTRODUCCIÓN .....	x
CAPÍTULO I.....	12
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN .....	12
1.1.    Fundamentación del problema .....	12
1.2.    Justificación e importancia de la investigación.....	13
1.3.    Viabilidad de la investigación .....	13
1.4.    Formulación del problema .....	14
1.4.1.    Problema General.....	14
1.4.2.    Problemas específicos .....	14
1.5.    Formulación de objetivos.....	15
1.5.1.    Objetivo general .....	15
1.5.2.    Objetivos específicos .....	15
CAPÍTULO II .....	17
2.1.    ANTECEDENTES DE INVESTIGACIÓN .....	17
2.1.1.    Antecedentes internacionales.....	17
2.1.2.    Antecedentes nacionales.....	20
2.1.3.    Antecedentes locales.....	22
2.2.    BASES TEÓRICAS.....	23
2.2.1.    Ozono.....	23
2.2.2.    Características físico-químicas del ozono .....	24
2.2.3.    Toxicidad y normatividad del ozono.....	24
2.2.4.    Acción química del ozono en el organismo .....	24
2.2.5.    Formas de aplicación de la ozonoterapia .....	25

2.2.6.	Mecanismo de acción.....	26
2.2.7.	Uso del ozono en endodoncia.....	30
2.2.8.	Microorganismos más frecuentes asociados a las lesiones pulpare.....	32
2.2.8.1.	Fusobacterium nucleatum .....	32
2.2.8.2.	Porphyromona gingivalis .....	33
2.2.8.3.	Prevotella spp .....	33
2.2.8.4.	Peptostreptococcus spp .....	33
2.2.8.5.	Streptococcus mutans.....	34
2.2.8.6.	Enterococcus spp.....	34
2.2.8.7.	Enterococcus faecalis .....	34
2.2.8.8.	Cándida albicans .....	36
2.2.8.9.	Ilifactor alocis.....	36
2.2.9.	Crecimiento microbiano.....	37
2.2.10.	Curva de crecimiento .....	38
2.2.11.	El Cepario .....	39
2.2.12.	Cepas atcc .....	40
2.2.13.	Mantenimiento del cepario.....	40
2.2.14.	Cuantificación del crecimiento microbiano .....	40
2.2.15.	Medición de la actividad antibacteriana.....	41
2.2.16.	Reconocimiento de la sensibilidad bacteriana: .....	41
2.3.	Bases conceptuales.....	43
2.4.	Bases filosóficas.....	44
2.5.	Bases epistemológicas.....	45
2.6.	Bases antropológicas.....	47
CAPÍTULO III.....		49
SISTEMA DE HIPÓTESIS .....		49
3.1.	Formulación de las hipótesis.....	49
3.1.1.	Hipótesis general.....	49
3.1.2.	Hipótesis específicas .....	49

3.2.	Operacionalización de variables .....	44
3.3.	Definición operacional de las variables .....	53
CAPÍTULO IV .....		54
MARCO METODOLÓGICO .....		54
4.1.	Ámbito de estudio .....	54
4.2.	Tipo y nivel de investigación .....	54
	Tipo de investigación .....	54
	Tipo: Aplicado .....	54
	Nivel: Experimental .....	54
4.3.	Población y muestra .....	54
4.3.1.	Descripción de la población .....	54
4.3.2.	Muestra y método de muestreo .....	55
4.3.3.	Criterios de inclusión y exclusión .....	55
4.4.	Diseño de investigación .....	55
4.5.	Técnicas e instrumentos .....	56
4.5.1.	Técnicas .....	56
4.5.2.	Instrumentos .....	57
4.6.	Técnica de procesamiento de datos .....	62
4.7.	Aspectos éticos .....	63
CAPÍTULO V .....		65
RESULTADOS .....		65
5.1.	Análisis descriptivo .....	65
5.2.	Análisis inferencial y/o contrastación de hipótesis .....	74
5.3.	Discusión de resultados .....	97
5.4.	Aporte científico de la investigación .....	99
CONCLUSIONES .....		101
SUGERENCIAS .....		103
REFERENCIAS .....		104

## INTRODUCCIÓN

El tratamiento de conductos es un procedimiento que consiste en el retiro de la pulpa de la cavidad coronaria y conducto radicular para su subsecuente limpieza y en estado óptimo poder llegar a obturarlo, tratamiento que la Odontología ofrece para solucionar el problema de salud oral que tanto aqueja a la población, complicaciones en estos procedimientos es que lleva al fracaso del mismo permitiendo la pérdida de pieza dentaria y en muchos casos en retratamientos algo complejos que muchas veces tiene el mismo final, su pérdida. En el afán de realizar la limpieza de dicho conducto encontramos en el mercado múltiples productos como la clorhexidina y el hipoclorito de sodio, sin embargo, en la literatura podemos encontrar que, por el tiempo de exposición que vendría a ser corto muchas veces no se llegan a eliminar los microorganismo en su totalidad uno de ellos es el *Enterococcus Faecalis* y podemos encontrar presencia del mismo en casos de fracasos en tratamientos de conductos, en la placa bacteriana, comprometiendo el éxito del tratamiento.

El ozono siempre ha estado presente en todo lo que hacemos y solo recientemente de unos años a acá es que se ha prestado un gran interés a esta sustancia cuya molécula está compuesta por tres átomos de oxígeno, formada al disociarse los dos átomos que componen el gas oxígeno. Cada átomo de oxígeno liberado se une a otra molécula de oxígeno gaseoso ( $O_2$ ), formando moléculas de ozono ( $O_3$ ). El uso del ozono es de suma consideración toda vez que podemos encontrar una extensa diversidad de aplicaciones por su alto potencial; es por eso que el objetivo de nuestro estudio se enfocó en determinar la eficacia del agua bidestilada ozonizada sobre la curva de crecimiento del *Enterococcus Faecalis*. En razón de lo expuesto anteriormente es que nos realizamos la siguiente pregunta ¿Cuál es el efecto del agua bidestilada ozonizada en la inhibición in vitro del crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212?

El objetivo general fue: Determinar el efecto del agua bidestilada ozonizada en la inhibición in vitro del crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 y los objetivos específicos fueron: establecer el efecto del agua bidestilada ozonizada a 1, 15 y 30 minutos de concentración sobre el *Enterococcus Faecalis* sometido a 2 minutos, 4 minutos y 6 minutos de exposición respectivamente. Para ello realizamos una investigación de corte aplicativo, in vitro, de diseño experimental, cuya población estuvo conformada por una cepa patrón *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 obtenidas del laboratorio

Microbiológicos®, mediante GenLab del Perú SAC, contando con 25 muestras de Cultivo de *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 divididos en 5 grupos (Control positivo, control negativo, Grupo A agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto, Grupo B agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minutos, Grupo C agua bidestilada ozonizada a concentración de 3 minutos, se tuvo como resultado que, el agua ozonizada sí tuvo efecto inhibitorio sobre la curva de crecimiento del *Enterococcus Faecalis*, también se concluyó que el agua bidestilada ozonizada tiene más efecto a mayor tiempo de exposición sobre el microorganismo (exposición a 6 minutos en concentración de 15 y 30 minutos), contrariamente el hipoclorito de sodio (grupo control) tuvo mayor eficacia a los 2 y 4 minutos de exposición disminuyendo el mismo a los 6 minutos.

## CAPÍTULO I

### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

#### 1.1. Fundamentación del problema

El éxito de un tratamiento de conducto se basa en el llamado cierre biológico que se define como el sellado apical por neoformación o aposición de tejido mineralizado el mismo que va a aislar la pieza dentaria del medio que lo rodea, claro está que este aislamiento se dará con un sellado perfecto a nivel coronal y apical, de manera que el aislamiento de la pieza con respecto al medio TOTAL que lo rodea sea absoluto, en la revisión de la bibliografía encontramos que para que se pueda realizar dicho cierre biológico o apical se debe de cumplir con ciertos parámetros en la preparación biomecánica, uso correcto y debido de irrigantes intraconductos y obturación final.

En la actualidad se maneja en el mercado diferentes productos para la realización de la irrigación de los conductos dentro de ellos el ozono.

Si bien el ozono muestra una variedad de acciones biológicas, su resultado antimicrobiano resulta ser el más ensayado, ya que interviene destruyendo bacterias, hongos y virus. (1)

Especialmente, en odontología se recomienda la utilización de agua ozonizada como agente que puede ayudar en la irrigación en los tratamientos de conductos, toda vez que sus resultados clínicamente fueron probados, sólidos y con exiguos efectos secundarios en el tratamiento de infecciones y heridas. (2)

El efecto antimicrobiano del ozono es consecuencia de su labor sobre las células, efectuando un daño sobre la membrana citoplasmática a través de la ozonólisis de enlaces dobles, así como por la transformación provocada por ozono a nivel de los compuestos intracelulares (oxidación de proteínas y pérdida de la función de organelos) debido a los efectos secundarios oxidantes. (3)

Por todo lo dicho anteriormente, se partió de la siguiente pregunta de investigación ¿Cuál es el efecto antibacteriano in-vitro del agua ozonizada sobre el *Enterococcus Faecalis*?

## **1.2. Justificación e importancia de la investigación**

En un mundo de continuo cambio y de avances tecnológicos es muy necesario aceptar que las técnicas convencionales que son practicadas cada día y además son continuamente enseñadas, pueden no ser ya las más correctas, y hasta perjudiciales a futuro. La tecnología de hoy permite la precisión de tratamientos endodónticos que estos a su vez optimizaran los mismos evitando las complicaciones que largo plazo se puedan observar y que conlleven a retratamientos innecesarios, es así que es una necesidad priorizar la salud bucal del paciente, donde se puede hablar sobre costo beneficio mediante el uso del agua ozonizada a diferentes concentraciones los mismos que actuaron sobre el *Enterococcus Faecalis*, es sabido de las propiedades atribuidas al biocida sujeto de nuestro estudio, del mismo modo la bacteria usada está comprometida en la formación de la placa bacteriana así como en la misma cavidad de la caries y parte importante encontrada y resistente dentro de los conductos comprometidos para un tratamiento endodóntico.

En la práctica estomatológica se hace uso de diversos materiales, algunos de ellos inclusive con estudios como posibles causantes cancerígenos, así como otros se presentan como alternativa algo costosa para los precios de los tratamientos.

Ante ello fue una necesidad el desarrollo del presente trabajo de investigación y sus resultados toda vez que se pudo plantear una alternativa de irrigante intraconducto, siempre y cuando los resultados del mismo arrojen positividad como un agente antimicrobiano al *Enterococcus Faecalis* que nos pueda llevar a masificar y abaratar costos que vayan en beneficio de nuestra población de manera muy segura.

## **1.3. Viabilidad de la investigación**

Es muy probable que la investigación que se realizó tuvo limitaciones, sobre todo en los momentos actuales de pandemia por la limitación en el acceso a laboratorios para la realización de la prueba ya que muchos de ellos están abocados mayormente a la toma de muestras relacionadas a nuestra situación actual, sin embargo, en el fin de la investigación y en la necesidad de usar un irrigante que pueda eliminar en su totalidad el microorganismo motivo de nuestra investigación es que se tornó viable la misma, tomando todas las medidas de bioseguridad dictadas en medio de esta nueva normalidad.

## **1.4. Formulación del problema**

### **1.4.1. Problema General**

¿Cuál es el efecto del agua bidestilada ozonizada en la inhibición in vitro del crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212?

### **1.4.2. Problemas específicos**

- 1 ¿Cuál es el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por dos minutos?
- 2 ¿Cuál es el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos?
- 3 ¿Cuál es el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por seis minutos?
- 4 ¿Cuál es el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minutos, en la inhibición in vitro del crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por dos minutos?
- 5 ¿Cuál es el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minutos, en la inhibición in vitro del crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos?
- 6 ¿Cuál es el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minutos, en la inhibición in vitro del crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por seis minutos?
- 7 ¿Cuál es el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minutos, en la inhibición in vitro del crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por dos minutos?

- 8 ¿Cuál es el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos?
- 9 ¿Cuál es el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por seis minutos?

## **1.5. Formulación de objetivos**

### **1.5.1. Objetivo general**

Determinar el efecto del agua bidestilada ozonizada en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212.

### **1.5.2. Objetivos específicos**

1. Determinar el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por dos minutos
2. Determinar el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos
3. Determinar el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por seis minutos
4. Determinar el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por dos minutos
5. Determinar el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos

6. Determinar el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por seis minutos
7. Determinar el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por dos minutos
8. Determinar el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos
9. Determinar el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por seis minutos

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. ANTECEDENTES DE INVESTIGACIÓN

##### 2.1.1. Antecedentes internacionales.

**Lüdi Etchevarren (2015)** realizó su trabajo de investigación en Santiago de Compostela de tipo experimental, en el cual el propósito fue probar el beneficio del ozono como cooperador en la desinfección de los conductos radiculares indicados para el tratamiento con endodoncia. Donde se proyectaron dos propósitos precisos, trabajo que valora el efecto del ozono gas sobre células planctónicas y biopelículas maduras de *E. faecalis*, principal responsable de la persistencia de la infección periapical y el fracaso endodónico. Se utilizaron dos equipos: uno de uso odontológico que proporciona una concentración máxima de ozono gas de 4 µg/mL, y otro de uso médico que consigue una concentración máxima de 80 µg/mL. Se utilizaron dos modelos experimentales.

1) Biopelículas de *E. faecalis* generadas experimentalmente en dientes extraídos. Se comparó la eficacia bactericida de ambos sistemas de generación, resultando el equipo médico más eficaz en la reducción de células viables tanto a 1, 7 y 14 días tras la aplicación del ozono.

2) Cultivos y biopelículas de *E. faecalis* generadas en microtubos de polipropileno. Nuestro novedoso modelo experimental simula las condiciones del tercio apical y elimina las variables concomitantes al uso de dientes (extensión de la infección y diferente acceso del ozono gas dependiente de la variabilidad anatómica de los conductos).

El ozono gas se aplicó: I) sobre células planctónicas en medio de cultivo líquido, II) directamente sobre la biopelícula. El ozono (20mL) se aplicó mediante una aguja patentada diseñada para este uso durante 60 segundos y a una concentración 20 µg/mL. No hubo diferencias significativas entre la aplicación del ozono sobre células planctónicas con respecto al control. Por el contrario, sí hubo diferencias significativas entre las células recuperadas de las biopelículas ozonizadas directamente y las recuperadas de biopelículas control (reducción del 99,9%), así como, con las recuperadas de las biopelículas donde se ozonizó el medio de cultivo. Como control negativo de crecimiento se utilizó NaOCl (5,25% y 2,61%).

La eficacia bactericida mostrada por el ozono gas, unido a sus efectos beneficiosos (antiinflamatorio, angiogénico) y a la ausencia de efectos adversos apoyan su uso como terapia complementaria en la desinfección de los conductos radiculares. (4)

**Pillajo Fabara C. (2017) Ecuador**, con su estudio de tipo descriptiva (5), determinó el resultado de un agente antifúngico en agua con ozono e hipoclorito de sodio al 2.5% encima del desarrollo de varias *Cándida albicans* in vitro.

La *Cándida albicans* se tiene presente en la terapia endodóntica como un representante microbiano duradero, el cual tiene la posibilidad de supervivencia en medios desfavorables como los túbulos dentinarios. El propósito de la investigación in vitro fue establecer la reacción antifúngica del agua ozonizada y el hipoclorito de sodio al 2,5% sobre la *Cándida albicans*. Después de una estimulación a la cepa de *Cándida albicans* a través del agar Sabouraud Dextrosa, en 4 tubos de ensayo, siguiendo con 5 ml con el que se continuó colocando esta masa de bacterias individualmente, almacenando en primer lugar un tubo 5ml de suero fisiológico, en el siguiente tubo 5 ml de hipoclorito de sodio al 2,5% y en el penúltimo tubo 5ml de agua ozonizada a 100 ug tratada por 10 min, y en el último tubo 5ml de agua ozonizada a 100 ug durando así 20 min. Después de estos actos consecutivos se hizo la siembra bacteriana de ,manera que se pueda duplicar, con el uso de la técnica la que consiste en verter la placa en 8 cajas Petri de agar Mueller Hinton, complementando también con glucosa al 2% y azul de metileno, incubando todo esto a 37°C por 24 horas y 48 horas, dando como fruto el agua ozonificada a 100 ug tratada por 20 min y el hipoclorito de sodio al 2,5% mostrando una reacción antimicótica parecida al desarrollo de la cepa de *Cándida albicans*. (5)

**Torres Cueva A. (2016). Ecuador**, Tesis de tipo experimental, descriptivo, comparativo (6), determinó la reacción bactericida del ozono relacionados con el hipoclorito de sodio al 5.25% como equipo de riego para conductos radiculares humanos de *Actinomyces israelii*.

El divisor microbiológico es tomado en cuenta como uno de los factores principales en el aborto de la terapia endodóntica, donde se pudo ver *Actinomyces israelii* es una bacteria relacionada con la caries que tiene la capacidad de penetrar los conductos radiculares, el cual puede sobrepasar el ápice mientras se da el proceso de instrumentación, presentando una facultad para poder acogerse en conductos laterales y sobrevivir a los medios no

favorables de los túbulos dentinarios, he aquí su importancia, aunque no se hayan ejecutado estudios durante un largo tiempo. La susceptibilidad que tiene el *Actinomyces israelii* a sustancias desinfectantes como Hipoclorito de sodio 5.25% y agua ozonizada 5%, fue calificado por medio de un estudio in vitro, donde se hizo el cálculo de CFU/placa consiguiente al lavado de los conductos radiculares con una duración de 3 minutos reemplazando constantemente estas soluciones de raíz del diente se coloca con las células en cuestión. (6)

Mediante la prueba ANOVA, donde no se encontraron diferencias significativas, pudimos identificar el efecto terapéutico de este fármaco. La prueba de Tukey puede mostrar que el hipoclorito de sodio al 5,25% es el fármaco de elección. Por tanto, tener una segunda solución acuosa de hasta un 5% con actividad antibacteriana muestra una diferencia estadísticamente significativa. Por lo tanto, se puede concluir que ambos factores pueden reducir eficazmente el riesgo de patógenos de origen dental humano durante el uso. Los inhibidores del gluconato de clorhexidina para el tratamiento de endodoncia muestran el mayor efecto inhibitor. (6)

**Pinheiro S., Silva C., Silva L., Cicotti M., Silveira C., Fontana C., Pagrion L., Dalmora N., Daque T., Campos F., realizaron (2018) En Brasil**, cuyo objetivo de esta tesis es confrontar la eficacia antimicrobiana del hipoclorito de sodio al 2.5%, clorhexidina al 2% y agua ozonizada en biofilms de *Enterococcus Faecalis*, *Streptococcus mutans* y *Cándida albicans* en canales de la raíz mesiovestibular con curvatura severa de los molares mandibulares. Este fue un estudio experimental. (7)

Para este estudio se necesitó 60 canales de la raíz mesiovestibular que tengan una curvatura severa de molares mandibulares, los cuales se infestaron con cepas estándar de *E. Faecalis*, *S. mutans* y *C. albicans*. Se seccionaron las muestras al azar en cuatro grupos (n = 15) según la solución de riego: SH: hipoclorito de sodio al 2.5%; CH: clorhexidina al 2%; O: agua ozonizada; y control: agua doblemente destilada. Todos los conductos radiculares mesiovestibulares se dispusieron con el sistema alternativo WaveOne Gold Primary. Se realizó tres ciclos de instrumentación con tres movimientos cortos de cepillado de entrada y salida: (1) a nivel del tercio coronal, (2) en el tercio medio y (3) a nivel del tercio apical del canal radicular. Se utilizó un archivo ProGlider previo al primer ciclo. Una de las opciones que en el presente se tenga en cuenta para el tratamiento de las enfermedades del conducto radicular es la ozonoterapia, donde se

utiliza el ozono en los tejidos orales en forma de agua ozonizada, aceite ozonizado y oxígeno / ozono, pudiendo ser solo o intercalado, según la patología dental que será tratada. El ozono tiene una alta potencia y es 1,5 veces más eficaz que el cloruro utilizado como representante antimicrobiano en contra de diversos microorganismos, haciendo también el flujo sanguíneo y la respuesta inmune. (7)

### **2.1.2. Antecedentes nacionales.**

**Sánchez C. (2017)** Realizó estudios experimentales probables a largo plazo para demostrar la calidad del lavado con agua de ozono para controlar la placa bacteriana y los niveles de estreptococos mutantes en la cavidad bucal. Se tomó una muestra de 66 alumnos del IE Juan Velasco Alvarado N°80015 de 6 a 9 años matriculados en 2008 y se aprobó para dos grupos (A y B) (rociados 30 y 60 segundos, seguidos respectivamente). Un grupo controla al otro. La primera muestra bacteriana se tomó para la higiene bucal según O'Leary y el nivel de Streptococcus mutans. 4 semanas después de la aplicación de la solución de ozono durante 30 a 60 segundos, se continuo a tomar un modelo de placa para poder realizar el cálculo de los dos niveles ya mencionado. El enjuague bucal se consideró eficaz en la etapa de inyección y después de casos de casos graves y bajos de concentraciones de UFC / ml en la población estreptocócica. Se utilizó la prueba t de Student para determinar si la irrigación oral fue efectiva durante el período normal. Cuando redujeron el enjuague bucal durante 30-60 segundos consiguieron el nivel de placa de 74.3% a 45% y de 77.9% a 35.4% respectivamente, el nivel de Streptococcus mutans se redujo de  $171.9 \times 10^6$  UFC/ml a  $40.5 \times 10^6$  UFC/ml y de  $178.9 \times 10^6$  UFC/ml a  $29.2 \times 10^6$  UFC/ml respectivamente. Se ha demostrado que lavar la boca con agua con ozono es eficaz para controlar los niveles de placa y estreptococos mutantes en la cavidad oral. (8)

**Carhuayo Matta, Miguel Augusto (2017). En la Universidad Nacional de Trujillo,** El propósito de este estudio fue determinar el efecto del virus sobre hipoclorito de sodio al 1% y 20 mg / L de agua ozono a 37 ° C, teniendo en cuenta el peso de Enterococcus Faecalis in vitro. El examen de 20 placas petri plantadas con Enterococcus Faecalis, 10 placa petri plantadas con hipoclorito de sodio y 10 placas petri plantadas con ozono reveló la aparición de UFC en 24 y 48 horas. La media de colonias (UFC) de las colonias de Enterococcus Faecalis fue equivalente a  $3,49 \text{ UFC} \times 10^6$  a 24 y 48 veces, dependiendo de la capa de ozono de 20 mg / L, y no hubo diferencia significativa entre las dos (p

<0,05). La colonia promedio de *Enterococcus Faecalis* tuvo alrededor del 1% de NaOCl a 37 ° C, fue a veces de 0 durante 24 y 48 horas. Se observaron diferencias en la importancia fisiológica a las 24 y 48 horas ( $p = 0,001$ ). (9)

**Fontoura T., Longhi G., Montagner F., Scur A., Steier L., Scarparo R., Figueiredo J., Vier-Pelisser F., (2016)** el objetivo de esta investigación fue el de corroborar el resultado del gas de ozono y el pulso eléctrico de elevada frecuencia en los conductos radiculares, que fueron anticipadamente contaminados con la bacteria *Escherichia Coli* LPS. Se uso 50 dientes unirradiculares, a los que se les extrajo la corona dental y sus raíces se tipificaron a 16 mm, para la instrumentación de estos conductos radiculares se alistaron limas K de uso manual, se desinfecto y esterilizo con radiación gamma con cobalto 60. Teniendo así muestras seccionadas en 5 grupos por el protocolo de desinfección. Estos canales contaminados y no contaminados se pusieron al agua apirogénica utilizando como controles positivos y negativos. (10)

**Salmero P. (2017) España-Murcia,** El propósito de este estudio fue evaluar los efectos de la terapia fotodinámica (TFD), clorhexidina al 2% (CHX), acetónido de triamcinolona (TAM), propóleo y ozono en *Enterococcus Faecalis* contra virus dentales humanos. Se utilizaron 160 dientes ininterrumpidos en la evaluación. Después de la limpieza y esterilización del conducto radicular, se infectaron los dientes con 0,1 mL de *Enterococcus Faecalis* (a una concentración de  $3 \times 10^8$  cel / mL), para luego incubarlos 37°C durante 48 horas. Se proporcionaron los dientes sin distinción en ocho grupos de tratamiento ( $n = 20$  por grupo): Grupo 1 (NaOCl al 2,5%); Grupo 2 (PDT); Grupo 3 (CHX al 2%); Grupo 4 (TAM); Grupo 5 (propóleo), Grupo 6 (ozono), Grupo 7 (control positivo) y Grupo 8 (control negativo). Después del tratamiento, la fuente del contenido se visualizó mediante puntas de papel estéril, la muestra se extendió en un dispositivo de transporte, se disolvió en una fila y después ser cultivadas por triplicado en placas de agar sangre para poder obtener el número de unidades formadoras de colonias (UFC) / ml.

Se examinó cinco dientes en SEM, en cada grupo en busca de contaminación y se identificó el área de contaminación y la cantidad de impurezas en comparación con todas las facetas examinadas. El grupo de control mostró la mayor concentración de UFC / ml y mostró una diferencia estadísticamente significativa entre los otros grupos de control ( $p \leq 0.05$ ). El grupo de tratamiento con el menor número de CFU / ml fue el ozono, con el

mismo valor que el grupo de PDT. Las imágenes SEM muestran que el 2,5% de NaOCL tiene el porcentaje más bajo de área contaminada. (11)

**Benalcazar M. (2015) Quito**, El objetivo de este estudio in vitro fue probar el efecto del lavado con hidróxido de calcio, aceite tratado con ozono, clorhexidina al 2%, lavado convencional y lavado con hipoclorito de sodio al 5,25% sobre *E. Faecalis* en presencia de la dentina. Teniendo en cuenta la reducción de bacterias, fue 99,99% de riego normal, 99,99% de IUP, 99,99% de riego con clorhexidina, 99,78% de aceite ozonizado y 74,57% de hidróxido de calcio. La prueba de Mann-Whitney confirma que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre el riego normal, el IUP y el riego con clorhexidina. Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el ozono y los otros grupos, y se encontró que el hidróxido de calcio no fue muy efectivo en el análisis de los otros grupos con un nivel significativo  $<0.05$ . Ninguna de las técnicas investigadas eliminó con éxito todos los virus que se encontraron presentes en el sistema de raíces del sistema de los conductos radiculares. Los métodos más efectivos son el riego convencional, IUP y el riego con clorhexidina. El aceite ozonizado mostro un porcentaje de reducción bacteriana bastante alto, y el hidróxido de calcio mostro un porcentaje de reducción bacteriana más reducido. La idea en este estudio fue bien recibida en parte, porque el grupo de clorhexidina resultó ser el más efectivo, pero el aceite obtenido del ozono mostró poco efecto. (12)

### **2.1.3. Antecedentes locales.**

**Marcavillaca A., Jiménez O., Quenaya G., Ortega-Cruz H., (2018)**, El propósito de este estudio fue determinar la actividad antibacteriana in vitro del tratamiento con ozono de propilenglicol y el ultrasonido sobre *Enterococcus Faecalis* en conductos dentales de bovinas. Esta investigación es experimental y se está realizando en el Laboratorio de Microbiología del Departamento de Biología de la Universidad Nacional Altiplano Puno. Las muestras se obtuvieron en agar biliar esculina, se usó dientes de bovino contaminados con *E. Faecalis* y se utilizaron endozone y ultrasonido en diversas etapas. Una vez finalizado este trabajo, se realizó un análisis de colonias en cada diente técnica de observación directa diseñada.

La actividad antibacteriana de la endozone relacionada al *E. Faecalis* fue del 92%, la actividad antibacteriana del endozone utilizada con ultrasonido durante 10 segundos fue

del 94,63%, usada en 20 segundos fue del 95,01% y la aplicación media de 30 segundos fue del 96,74%. Dado que el efecto antibacteriano es consistente con el tiempo de aplicación, el análisis estadístico de Clascal Wallis mostró una diferencia significativa entre los diferentes tiempos de aplicación. (13)

## **2.2. BASES TEÓRICAS**

### **2.2.1. Ozono**

La atmosfera está compuesta mayoritariamente por nitrógeno (78%) y en segundo lugar por oxígeno (26%). El porcentaje sobrante pertenece a muchos gases, incluido el ozono en pequeñas cantidades, unas pocas moléculas por millón de partículas de aire (0,01%) Sin embargo, juega un papel importante en el mantenimiento de la vida en el planeta conocido al protegernos de la radiación ultravioleta, un importante carcinógeno físico para los seres humanos, los animales y los ecosistemas marinos. (14)

El ozono se presenta como un gas conformado por moléculas triatómicas de oxígeno, localizados en unidades cíclicas. Adquiere un peso molecular es de 48 Da, su gran poder oxidante es otra característica importante de este compuesto, superado solo elementos químicos como el flúor y el persulfato. Como lo habíamos manifestado anteriormente se presenta como un gas que tiene una coloración azulada, bastante inestable, por lo que se puede perder rápidamente, mostrando una existencia promedio de 40 minutos a 20 °C, este gas es 1,6 veces más pesado que el oxígeno y 10 veces más soluble en agua. La otra característica principal del gas de ozono es su olor (procede del griego “ozein” que significa olor). Se logra reunir de forma condensada en un líquido de color azul profundo a muy bajas temperaturas. (15)

El ozono se puede hallar de forma natural en la atmosfera, donde realiza un papel protector frente a la radiación ultravioleta que es emanada por el sol, generándose la misma por encuentro de la energía radioactiva solar en las moléculas de oxígeno, logrando descomponerlas en dos géneros efímeras altamente reactivas, las cuales se muestran reactivas con otras moléculas diatómicas de oxígeno, consiguiendo unirse finalmente a ellas y originando la forma triatómica que es característica primordial del ozono. (15)

### **2.2.2. Características físico-químicas del ozono**

El átomo de ozono está constituido por tres átomos de oxígeno. La razón de esta singularidad es que las fuerzas de atracción entre los átomos son muy pequeñas, lo que hace que la partícula de ozono sea muy inestable.

La inestabilidad mencionada aumenta con el incremento de 200 o C. Por lo tanto, el ozono no puede almacenarse, sino que debe agregarse en el momento del procesamiento. Por otro lado, su fuerte procesamiento le otorga al ozono una propiedad oxidante especial, pues simplemente deja uno de sus átomos a diversos compuestos oxidantes, por lo que se usa como desinfectante y bactericida (16)

### **2.2.3. Toxicidad y normatividad del ozono**

El ozono es un irritante respiratorio. Los efectos en la salud del ozono como contaminante se apoyan en su toxicidad. Debido a su baja solubilidad, el ozono penetra en el tracto respiratorio e irrita las membranas mucosas y los tejidos pulmonares.

Las altas concentraciones de ozono, la exposición transitoria, pero a largo plazo y la actividad física intensa durante la exposición podrían ocasionar graves daños a la salud, entre ellas: disminución de la función pulmonar, empeoramiento del asma, dificultad para respirar, dolor en el pecho al respirar profundamente, sibilancias y tos.

La exposición a altas concentraciones de ozono aumenta la mortalidad, las hospitalizaciones y las visitas a la sala de emergencias por problemas respiratorios. La exposición reiterada al ozono puede hacer que las personas sean más propensas a las infecciones respiratorias y empeorar las afecciones respiratorias existentes, como el asma, la bronquitis y la fibrosis pulmonar (17)

### **2.2.4. Acción química del ozono en el organismo**

El ozono se vuelve químicamente más activo que el oxígeno y un excelente oxidante.

Cuando el ozono es colocado dentro del cuerpo, tiene lugar la primera reacción química, llamada ozonólisis, durante la cual se liberan las consecuencias de las reacciones metabólicas, cuyos productos dan resultados beneficiosos para el cuerpo como

- a) Reducción del estrés oxidativo
- b) Estimulación del sistema inmunológico
- c) Mejoramiento del metabolismo del oxígeno

d) Es antibacteriano

e) Tiene efecto analgésico (18)

### **2.2.5. Formas de aplicación de la ozonoterapia**

Luego de producirse el ozono, este se puede usar en medicina y odontología de tres formas: se administra de forma directa como gas, se disuelve en agua destilada (agua ozonizada) y disuelto en sangre (Auto hemoterapia). (19)

#### **2.2.5.1. Ozono gas**

Este gas contiene gran facultad germicida contra bacterias, virus y hongos, por su alto dominio oxidante. En odontología se suele emplear mediante una aguja con una única salida apical. La existencia del gas de ozono es proporcional a la concentración obtenida, al tiempo y a la velocidad de flujo con el cual se insufla en el microorganismo en cuestión, como también al tipo y agregación en el que éste se encuentre. (20)

#### **2.2.5.2. Agua ozonizada**

Como algún u otro gas, el ozono que es diluido en un líquido según la ley de Henry. Al ser diluido el ozono en agua destilada, este se deshace de forma rápida por medio de una serie de respuestas que se dan en cadena, dando como resultado final un radical hidroxilo altamente reactivo. Esta agua ozonizada manifestó ser un gran agente desinfectante con una potente acción antimicrobiana frente a bacterias, virus y hongos. La acción germicida del agua ozonizada estará hondamente ligada a la concentración del ozono diluido en el agua, la mayoría de los autores trabajan a concentraciones de 4 mg/mL, pero algunos autores han explicado los buenos resultados a concentraciones inferiores. Posiblemente la efectividad antimicrobiana del ozono no depende sólo de su concentración sino también del tipo de microorganismo y, como en el caso de las bacterias, la forma en que se hallen: forma planctónica o biopelícula. (21)

Así mismo, se debe recalcar que cuando hay materia orgánica diluida en el agua que se ozonizará, aminorará la capacidad bactericida de esta agua ozonizada, ya que el ozono tendrá gran avidez por los dobles enlaces de carbono y esto tendrá como resultado una concentración de ozono real inferior a la esperada. (4)

Una de las ventajas del agua ozonizada al ser utilizada como un agente desinfectante es su biocompatibilidad celular y tisular, superior a la de otros desinfectantes ampliamente empleados en odontología como es el caso del hipoclorito de sodio o el digluconato de clorhexidina, así, investigaciones realizadas en fibroblastos L-929 de ratón comprobaron la baja citotoxicidad del agua ozonizada en relación con concentraciones del NaOCl al 2,5% (4, 19)

## **2.2.6. Mecanismo de acción**

### **2.2.6.1. Actividad germicida**

Una de las facultades de la ozonoterapia va a ser la acción germicida de amplio espectro. Este elemento en la naturaleza es considerado como el mayor germicida que exista, el ozono se tornara potente cuando se ponga en contacto directo con virus y bacterias en la ejecución de procedimientos específicos de heridas y en aguas contaminadas; también es usado, como desinfectante y antiséptico por su propiedad oxidante inmediata sobre los microorganismos y su operación con elementos orgánicos insaturados en la ozonólisis, lo que favorece su acción antimicrobiana. (22)

Según la bibliografía el O<sub>3</sub> no se le ha encontrado efecto genotóxico ni toxicológico cuando es utilizado en dosis sugeridas, no se notificaron efectos desfavorables, por lo que se puede evidenciar que no es riesgoso ni alterará o pondrá en riesgo la salud del paciente. En la actualidad se sabe que, bajo estrés oxidativo moderado, va a estimular al organismo para una defensa o protección antioxidante enzimática, todo ello lleva a concebir al ozono como un compuesto que tiene pre condicionamiento oxidativo el cual será idóneo de revelar las propiedades farmacológicas del O<sub>3</sub> sobre las patologías causadas por variedades de microorganismo que son reactivas al oxígeno. El uso del ozono en todas sus presentaciones (gas, líquido o aceite) tiene como resultado una gran eficacia sobre microorganismos con minúsculo o eminente grado de patogenicidad, reduciendo claramente que este se reproduzca tanto en número como en capacidad, llegando en algunos casos a la erradicación total de estos, lo que repercutirá en provecho tanto del profesional, así como del paciente. El ozono en su presentación acuosa y en concentraciones elevadas (mayores a 20 µg/mL), destruye casi en su totalidad a los microorganismos de la biopelícula dental, inclusive traspasando la organización del biofilm, lo que llevo a la conclusión de catalogarlo como un antiséptico potente. Esto se da porque al ser un desinfectante poderoso va a dificultar la integridad de la membrana

plasmática celular por oxidación de fosfolípidos y lipoproteínas, tomando como medio la actuación del mismo con muchos componentes de la célula, circunscribiendo a los lípidos no saturados, proteínas y enzimas de la respiración celular, proteoglicanos, enzimas, ácidos nucleicos en el citoplasma y de proteínas y peptidoglicanos ubicados en la superficie bacteriana. (23)

De manera análoga crea una mutación en los contenidos bacterianos intracelulares por los efectos oxidantes secundarios producidos por el Ozono. En síntesis, la acción oxidante del ozono ataca las glucoproteínas y glucolípidos de las células patógenas, lo que al mismo tiempo permite que la membrana se vuelva permeable permitiendo el ingreso del ozono a la célula lo que conlleva a la eliminación de la misma. (19) Esto es lo que le da la capacidad al ozono de eliminar a todas las especies conocidas de bacterias Gram positivas y bacterias Gram negativas, incluso la *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli*, las mismas que son enormemente tenaces ante los antibióticos, lo que permite concluir de su uso como un bactericida para tratamientos frente a patógenos altamente fuertes. Esta reacción bactericida se potencia en un entorno acuoso, fundamentalmente si presenta un pH ácido, siendo indeterminada su acción contra algunos agentes patógenos, limitando su reacción contra dichos microorganismos sin producir afección alguna a las células del hospedero, por las características de las células de los mamíferos, la cual tiene facultades antioxidantes, de la misma manera inactivan bacterias, afectando también a virus, hongos, levaduras y protozoos. (24)

#### **2.2.6.2. Dosis terapéutica**

El ozono de grado médico, o también nombrado ozono medicinal, este compuesto por oxígeno médico (oxígeno puro) y ozono puro, en una proporción de 0,05% - 5% de O<sub>3</sub> y 95% - 99,95% de O<sub>2</sub>. (25)

Las dosis que se propone como terapéuticas son: 10-15 µg/mL como mínimo, y 80 µg/mL como máximo, lo cual también se sujeta a la capacidad antioxidante del individuo y la patología que se trate. En terapias sistémicas, se suele iniciar con dosis muy bajas, la que se irá aumentando paulatinamente. La utilización repetida de dosis bajas activas enzimas como: superóxido dismutasa, catalasa, deshidrogenasa y glutatión peroxidasa, siendo estas partes del complejo sistema enzimático que cuida el organismo contra la acción de los radicales libres. Por otro lado, el empleo de un organismo a bajas concentraciones de

un agente induce una adaptación y respuesta beneficiosa, pero en niveles altos resulta perjudicial. Se postulo que la oxidación de los lípidos, trabajan como mensajeros a larga distancia (LOP), pudiendo comunicar a todos los órganos la información de un estrés oxidativo agudo. El concepto paradójico es que el ozono con el tiempo lleva a una respuesta antioxidante capaz de restablecer un proceso oxidativo crónico. Debido a la inseguridad de la molécula de ozono, cuando se va a emplear para terapia médica debe originarse inmediatamente antes de su uso, debiéndose usar en menos de una hora ya que pasado el tiempo se convierte en oxígeno, siendo muy trabajoso el almacenamiento durante largos períodos de tiempo. (4) Cuando se diluye el ozono en agua, su transformación será inmediata, pero al diluirse en líquidos de mayor viscosidad como aceites, su transformación se ve muy retardada. (4, 26) Cabe señalar que en nuestro caso para nuestro estudio usaremos un equipo con 92,5 µg/mL como máximo de concentración.

### **2.2.6.3. Acción antiinflamatoria y analgésica**

El ozono aparte de poseer una acción antimicrobiana presenta un doble componente de acción: analgésico y antiinflamatorio. Los mismos que se dan al parecer cuando actúan sobre algunos objetivos:

- Estimulación del Metabolismo del oxígeno: La ozonoterapia causa el acrecentamiento de la tasa de glicosilación en los eritrocitos. Esto estimulara a la enzima 2.3- difosfoglicerato, que lleva al aumento de la suma de oxígeno en los tejidos, optimizando la carboxilación oxidativa del piruvato, originando la elaboración de ATP, reduciendo el NADH (Dinucleótido de adenina nicotinamida) y favoreciendo a la oxidación del citocromo C6. Lo que repercute aumentando la producción de enzimas que intervienen suprimiendo radicales libres, así como de componentes preservadores de las paredes en las células entre lo que tenemos: glutatión peroxidasa, catalasa, superóxido dismutasa y prostaciclina. (24, 27)
- El ozono facilita el acrecentamiento en la producción de interferón y una mayor ganancia de TNF-a y de interleuquina 2 (IL-2) los que entablarán una serie de reacciones inmunológicas que alcanzan claramente modulando la respuesta inflamatoria. (24)

- El ozono permite la producción de elementos biológicamente activos como: interleucinas, leucotrienos y prostaglandinas, lo que es ventajoso para aminorar la inflamación y el dolor. En el área de infección o inflamación se puede encontrar un pH ácido que corresponden a cargas positivas entre sus átomos, mientras que el ozono va a presentar un pH básico cuando está relacionado a cargas negativas. Cualidad que admite la interacción entre las moléculas favoreciendo el arribo del Ozono a la zona afectado que mantiene un proceso inflamatorio. (24)

#### **2.2.6.4. Acción antihipóxica**

El efecto del ozono sobre el oxígeno se puede explicar por su acción, que promueve cambios en las propiedades de la sangre y acelera el ciclo glucolítico de los glóbulos rojos. (28) El ozono aumenta la cantidad de O<sub>2</sub> en los tejidos, aumenta el transporte de oxígeno en la sangre y altera los efectos del ciclo celular sobre los procesos metabólicos (glucólisis, ciclo de Krebs, oxidación de ácidos grasos) y el uso de energía. Se han observado que las concentraciones de glucosa y otros metabolitos en sangre se han normalizados en personas que recibieron esta terapia con este compuesto. Factores como el glutatión peroxidasa, catalasa, superóxido dismutasa y prostaciclina (vasodilatadores) son responsables de la producción de analgésicos protectores y enzimas que actúan como proteínas de la pared celular. (28)

#### **2.2.6.5. Acción inmunoestimulante**

El ozono afecta el sistema inmunológico de las células y humoral, provocando la reproducción de células capaces de producir una respuesta inmunitaria normal, así como la producción de inmunoglobulinas. (24)

Asimismo, afecta la activación y aceleración de la actividad de los macrófagos, aumentando la susceptibilidad de las bacterias a la fagocitosis.

El uso de ozono en humanos con concentraciones entre 30 y 55 µg / ml aumenta la producción de interferón y aumenta el factor de necrosis tumoral (TNF-) y la interleucina 2 (IL-2).

La elaboración de IL-2 mejora el proceso de futuros efectos inmunitarios. Esto indica que el uso de ozono médico es muy beneficioso para mejorar el sistema inmunológico de pacientes inmunodeprimidos y / o con deficiencias en su sistema inmunológico.

El O<sub>3</sub> incrementa la velocidad en la que los glóbulos blancos realizan una función protectora de las células al aumentar la cantidad de oxígeno en la sangre durante todo el proceso de la terapia. Este es un aspecto importante que debe ocurrir con la patogenia de la enfermedad o en infecciones de etiología bacteriana.

Las mejorías en niños con inmunosupresión baja o moderada después de recibir ozonoterapia por insuflación rectal, modificando el curso clínico y aumentando el número de células con fagocitosis normal. (24, 25)

### **2.2.7. Uso del ozono en endodoncia**

La especialidad de Endodoncia en la Odontología conservadora se hace cargo del estudio de la biología pulpar, etiología, diagnóstico, prevención y la terapia de patologías y lesiones pulpares y la afección de los tejidos periapicales del ser humano. El objetivo primordial en el tratamiento endodóntico es conseguir la limpieza total de los conductos radiculares para poder confirmar el éxito del tratamiento. Desde tiempos pasados la terapia endodóntica estaba en mano mayormente de irrigantes químicos que llegaban a los canales accesorios con la finalidad de desinfectar y disolver los desechos en zonas donde la instrumentación mecánica se hace imposible de llegar, por esta razón el tratamiento con ozono se plantea como una elección eficiente en la terapia de infecciones internas de las piezas dentarias. Su existencia en forma acuosa o gaseosa, dependerá de su concentración bactericida efectiva, que a su vez puede afectar la presentación bacteriana (planctónicas o como biopelículas), de la concentración del ozono, del uso efectivo del mismo y del medio en el cual se encuentran. El ozono se usa de manera directa, luego de una limpieza química y mecánica del conducto radicular.

Antes de completar la instrumentación y obturación tridimensional de todo el sistema de conductos, se recomienda remojar el aceite en una cantidad de 5-20% para lubricar y eliminar las bacterias, luego seguir irrigando con agua ozonizada para luego secar el sistema de conductos. El ozono se trasladará electroquímicamente por medio de los canales laterales y túbulos dentinarios, lo que permitirá eliminar a los microorganismos patógenos que se encuentren en áreas muy difíciles de acceder.

Además, el tejido óseo apical puede actuar como un nicho para los microorganismos después de haber completado la terapia endodóntica convencional. El ozono mata estas bacterias y productos de desecho dañinos, lo que permite la curación ósea y una

regeneración saludable. El aceite ozonizado obtenido no solo se usa para lubricar a las paredes de los sistemas de conductos durante la instrumentación, sino que también se puede utilizar como recubrimiento intra canal que admita la asepsia y disminución y a su vez el drenaje y reducción del olor anaeróbico que salen de las piezas dentarias. (24, 28)

#### **2.2.7.1. Ozono en irrigación endodóntica:**

En el lavado a lo largo de la terapia intraconducto, el hipoclorito de sodio fue el objetivo de investigación más estudiado por sus cualidades que son altamente antimicrobianas, encontrándose como desventaja, que es un producto no selectivo por lo que se propone que trastorna las células procariontes y eucariontes, y cuando se ocasiona una salida a los tejidos vecinos al ápice puede ocasionar lesiones graves como quemaduras, hinchazón periapical y muerte tisular. Se plantea a la ozonoterapia como una elección más eficaz tanto para el paciente y operador, aparte de proveer propiedades detalladas con anticipación al usarse como un agente irrigante usado en el lavado de los conductos en endodoncia. (24, 28)

Existen variadas formas para lograr obtener un mayor efecto de la irrigación intracanal con gas o agua ozonizada. Se llego a evidenciar que el aire beneficiado con O<sub>3</sub> propone una acción antimicrobiana que actúa sobre una biopelícula determinada, que estará mejorada con activación ultrasónica. Corroborando de igual forma un sinergismo de reacción antimicrobiana al colocar el ozono en conjunto con clorhexidina; esto se puede exhibir por la diferente forma de actuar de los componentes. (25, 29)

#### **2.2.7.2. Ozono como medicamento endodóntico:**

La terapia medicamentosa del sistema de conductos con aceite ozonizado fue tratada cuidadosamente con su nombre comercial OLEOZON®. El que es considerado ventajoso como medicamento para desinfectar conductos radiculares, las cuales se emplean cada 48 horas. Se relacionó con medicamentos muy usados en el medio teniendo efectos excelentes. Al relacionarlo con Dentofar® (paraclorofenol alcanforado y prednisolona) ambos fueron efectivos en la asepsia del 100% del sistema de conductos afectados en dos o tres citas. Al relacionar OLEOZON® con Cresophene®, se determinó que tienen las propiedades similares, pero se hallaron significativas diferencias en su accionar antimicrobiano visto del punto farmacocinético para la misma dosis en la terapia, teniendo en cuenta que el Cresophene® es eficiente por 48 horas una vez aplicado a diferencia de

OLEOZON® oral, el mismo que presenta una eficacia y rendimiento que pasan los 7 días. El empleo de OLEOZON® oral en lugar de Cresophene® para tratamientos de conductos si tuviese una causa infecciosa tiene la ventaja de alcanzar mayor estabilidad y mejor reacción en la terapia ambulatorio sin solicitar socorro a las 24 o cada 48 horas. El empleo del OLEOZON® oral puede ser incorporada para otras formas de aplicación del ozono, del mismo modo de otras terapias convencionales tanto por vía local como **sistémica**. (24, 29)

## **2.2.8. Microorganismos más frecuentes asociados a las lesiones pulpares**

### **2.2.8.1. Fusobacterium nucleatum**

Son polimorfos que nacen en una variedad de formas, incluidas las lobuladas, las redondeadas finas, etc.

Los polímeros de glucosa se utilizan para sintetizar material de provisión intracelular, pero las fuentes más importantes de alimento y energía se van a dar por el catabolismo de los péptidos y aminoácidos, quedando como producto final al ácido butírico. (30)

Como otros patógenos importantes y bacilos anaeróbicos severos, esta bacteria es resistente a la coloración con pigmento verde brillante, este patógeno se presentan en grandes áreas de la boca, así como aisladas en el intestino y las vías respiratorias, aún se encuentran en el surco gingival. Este microorganismo puede desplazarse hacia el surco gingival comprometiendo a la misma.

La definición y la etiología de su virulencia de la fusobacterium nucleatum no están claramente definida y el poder preponderante está asociada con la endotoxina y asimismo la leucotoxina que consiste en endotoxinas y bacterias productoras de neutrófilos y fosfatasa que son compuestos que inhiben la quimiotaxis propendiendo a la formación de células inmunitarias. Esta bacteria tiene la ventaja de integrarse con otras bacterias que apoyan el proceso de colonización y formación de placa.

Estas toxinas van a ser tóxicos tisulares que producen los compuestos que provocan el mal aliento (30, 31)

### 2.2.8.2. *Porphyromona gingivalis*

Esta familia se ha relacionado con ocho especies, de los que en el ser humano tiene preponderancia a la especie *Porphyromonas*. Bacilos o cocobacilos gran anaerobios estrictos inmóviles que no está hidrolizado la esculina. Para su metabolismo aprovechan aminoácidos y no fermentan hidratos de carbono. En el cultivo en agar sangre, con vitamina K y hemina, las colonias crecen poco a poco (7-15 días) y se pueden lograr un diámetro 1-3 mm. Las colonias pigmentadas se van tornando una coloración marrón y al final negra brillantes desde el borde hacia el centro.

*Porphyromonas gingivalis* es una especie relacionada a la periodontitis crónicas y abscesos periapicales, su medio ambiente es el surco gingival, formando fracción de la placa subgingival. En relación con *Fusobacterium nucleatum* se asocia a la gingivitis y periodontitis. El *P. endodontalis* es menos nociva por tener menos etiologías de virulencia, formando parte del microbiota de la boca y encías. *P. Asaccharolytica* se aísla en heces y podemos encontrarlas de manera inferior en la cavidad oral. (30, 32, 33)

### 2.2.8.3. *Prevotella spp*

Este grupo abarca bacterias moderadamente sacarolíticas, pero no metaboliza algunas sales de glucosa, por la falta de enzimas de glucosa deshidrogenasa la cual no se desarrolla en presencia de la bilis en un 20% esas bacterias son tolerantes a la vancomicina; éste está en relación en un mayor grado con procesos de infecciones pulpares, abscesos periapicales y alveolitis en la casi totalidad de los ambientes su comportamiento patógeno no es muy sabido. En las enfermedades periodontales, va a ser la que más presencia va a tener y cuyas características de sus colonias contrariamente de las de la *Porphyromonas gingivalis* éstas va a producir fluorescencia. (34)

### 2.2.8.4. *Peptostreptococcus spp*

Estos microorganismos son Cocos de cadenas chicas, Gram positivos no creadores de esporas al mismo tiempo son anaerobios, su vector de virulencia la podemos localizar en la enzima de colagenasa y betalactamasa la misma que se puede aislar frecuentemente en procesos infecciosas que van a presentar segregaciones o formación de pus el que se va a presentar con un aspecto mixto y polimicrobiana, pueden formar infecciones aun en

el cerebro y los senos pleuropulmonares peritoneales etc., la síntesis final del metabolismo en esta bacteria son ácidos isocaproico. (35)

#### **2.2.8.5. Streptococcus mutans**

Esta bacteria es de la más común en odontología, su patogenia no solo está relacionado a la etiología de la caries, como es sabido este microorganismo podemos encontrarlo en los conductos radiculares y conocido entre los Dentistas como el principal causante cariogénico con la capacidad de establecerse en varias superficies duras, se puede aislar esta bacteria en la cavidad oral, a partir de la placa supragingival, radicular y saliva.

Se le atribuye una acción notable en el desarrollo de endocarditis, este estreptococo se suele aislar en Agar sangre, ya que pueden ser Alfa y beta hemolíticas.

Cuenta con proteínas asociadas a la mureína o constituyente de las paredes celulares registradas como sus antígenos 1 y 2, estas proteínas favorecen en su progreso agresivo de esta bacteria.

La síntesis de polisacáridos endógenos, glucanos insolubles e insolubles, la conversión de polisacáridos intermoleculares por disolventes en combinación con glucógeno fosforilasa y dextrasa y fructanasa, y la capacidad productora de ácido del ácido acidófilo PH y el ácido úrico 5 ayudan en la síntesis de proteínas. (36)

#### **2.2.8.6. Enterococcus spp**

Pertencen a la variedad de muchas especies de bacterias, la más frecuente es el Enterococcus Faecalis seguida de su familiar como el Enterococcus faecium, la virulencia de estos no es bien conocidos. Teniendo como hábitat el intestino. Crea procesos que se pueden iniciar no sólo en la cavidad oral sino eventualmente en otras zonas del cuerpo, muchos de estos microorganismos pueden resistir a medicamentos con un amplio espectro, son bacterias anaeróbicas y soportan a los aminoglucósidos, pero seguidas de otro compuesto que inhibe su pared de peptidoglucano. (37)

#### **2.2.8.7. Enterococcus faecalis**

El E. Faecalis es un coco Gram positivo que podemos encontrar solos, en pares o en cadenas; estas células pueden hallarse como coco-bacilos cuando usamos la tinción de

Gram en muestras de placas de Agar, asimismo pueden localizar ovals o en cadenas cuando se hace la tinción de Gram en muestras provenientes de caldo de tioglicolato. Ésta es una bacteria anaerobio facultativo y su perfeccionamiento óptimo sucede a 35°C; asimismo, igualmente se ha visto que se desarrollan entre 10 y 45°C. Todas las cepas alcanzan desarrollarse en caldos que contengan cloruro de sodio al 6,5% y esculina hidrolizada en sima de sales biliares al 40% (medio de bilis-esculina). Casi la totalidad de las cepas de este microorganismo son homofermentativas, es decir no crean gas, no tienen enzimas citocrómicas y el ácido láctico será el producto final de la fermentación de la glucosa.

Debemos de saber que el *Enterococcus Faecalis* tiene una pared celular con antígenos del grupo D, que es un ácido lipoteicoico glicerol intracelular relacionado con la membrana plasmática. La pared celular está conformada por un gran número de peptidoglicanos y ácido teicoico.

Nakajo y col. Evaluaron las propiedades bioquímicas de *E. Faecalis* debido a la resistencia a los ácidos-alcalinas y se compararon con las propiedades bioquímicas de *Streptococcus mutans*.

En el *E. Faecalis*, la resistencia está representada por una ácido-resistencia similar al *S. mutans*, que es más alta que en el caso de las alcalino-resistencia. Los autores sugieren que la tolerancia al pH del *E. Faecalis* puede estar relacionada con la resistencia de la membrana plasmática a los ácidos o medios alcalinos absorbibles por el sistema de transporte de ATP.

En cuanto a la propiedad de sobrevivir a medios con pH ácidos o alcalinos, el *E. Faecalis* ha demostrado igualmente ser eficaz a constituir comunidades microbianas adosadas a superficies o "biopelículas".

Las biopelículas son conceptualizadas como colectividades de patógenos aglutinadas en una faceta e impregnadas en una matriz de polisacáridos y proteínas formando una capa viscosa. La base matriz simboliza el 85% del cuerpo de la biopelícula, investigación realizada por George et a quienes evaluaron la penetración profunda internamente de los túbulos dentinarios por parte del *Enterococcus Faecalis*. (38)

#### **2.2.8.8. *Cándida albicans***

El género *Cándida* consta de un promedio de 150 géneros y tiene una predisposición genética con respecto a la ausencia de la forma sexual, con la excepción de algunas cepas de hongos. Se distribuyen como levaduras y suelen encontrarse en hongos en condiciones de crecimiento unicelular.

El *Cándida albicans* generalmente aparece como células de levadura ovaladas de 2-4 micrones con una pared fina como característica. Sin embargo, también se observaron cambios filamentosos de dilatación inestable en el tejido infectado, con bordes redondeados de 3-5 micrones de diámetro y pseudohifas, células fúngicas largas adheridas entre sí.

Microscópicamente todas las especies de *Cándida* son semejantes; todas las levaduras son Gram positivas, sin embargo, en algunos escenarios la forma de las blastosporas varía de ovoide a elongada o esférica.

También se puede observar que este agente patógeno presenta dimorfismo, es decir, una mutación de esporas (levadura) en la estructura ovalada desde la yema hasta las hifas.

La composición química de *Cándida albicans* está representada por un 20-40% de proteína y un 30-50% de polisacáridos, pero la presencia de lípidos es diferente. La distribución de la grasa depende del estrés, la edad, el hábitat y el origen del carbono.

Los diferentes tipos de fosfolípidos son *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. Varias especies de Cándida que se originaron en boca y C. Parapsilosis y C. kéfir. Los fosfolípidos más conocidos son la fosfatidiletanolamina y el fosfatidilglicerol. Estos fosfolípidos son esenciales para regular la función normal de las membranas de las células fúngicas mencionadas anteriormente. (39)*

#### **2.2.8.9. *Alocis filifactor***

El *Alocis Filifactor* fue Aislado por primera vez en 1985, a nivel del surco gingival como *Alocis Fusobacterium*. A través del estudio filogenético que se hizo, su reclasificación de como *Alocis Filifactor* (1999), Su alta presencia en bolsas periodontales ha establecido jerarquía en el crecimiento de la enfermedad infecciosa, empero además se han verificado en los conductos radiculares que está re a signos y síntomas de las infecciones de los

conductos así como su hallazgo importante en casos de endodoncias con fracaso, autores han confirmado que coexiste este mismo microorganismo en el surco próximo de los implantes orales, el que estará asociado a múltiples infecciones orales. (40)

Viven en el surco gingival y han sido relacionados con la enfermedad periodontal, no obstante, su significación como patógenos no está comprobada.

Se aísla en forma de líquido crevicular gingival, patogénesis por cultivo e infección endodóntica por patogenia. Este tipo de fusobacterias tiene la capacidad de interactuar con muchos virus en la cavidad oral que se consideran virus importantes como un puente entre las colonias mientras producen la placa dental. (41)

### **2.2.9. Crecimiento microbiano**

La progresión es el desarrollo de todas las componentes y/o microorganismos. En ese caso, el aumento de volumen que se produce cuando las células absorben agua y lípidos y polisacáridos (productos almacenados) no es un desarrollo real. La proliferación celular es el resultado de la reproducción microbiana y el resultado de la reproducción en forma de un aumento en la población o población que resulta en el cultivo.

En este momento, la copia celular se realiza copiando todos los elementos esenciales de la célula, como las proteínas. ARN, ADN y líquido extracelular. (42)

Otro concepto utilizado desde la perspectiva de desarrollo es la proliferación de patógenos en la población. También puede contarse como un aumento en la cantidad de bacterias. (43)

Los cultivos de desarrollo bien evaluados tienen propiedades químicas duraderas. La sistematización de cada elemento es suficiente para conocer la velocidad del progreso. La proliferación celular es el resultado de la evolución.

Un crecimiento de cultivo bien equilibrado imita la primera etapa de una reacción química auto catalítica. Es decir, la cantidad de bacterias que se aumenta con el tiempo es igual a la cantidad de bacterias presentes en ese momento.

En todos los cultivos bacterianos, el crecimiento no mantiene esta condición durante mucho tiempo y la tasa de crecimiento suele estar restringida por la desnutrición o por el

almacenamiento de productos tóxicos del microorganismo que provoca el metabolismo. La velocidad se reducirá y el progreso se detendrá.

El ensayo experimental con difusión de agar se identificó como antibiograma. Esta valoración le ayudará a seleccionar el agente antibacteriano más eficaz para el tratamiento de infecciones bacterianas. Por lo tanto, antes de que los antibióticos sean efectivos, deben combinarse con otros agentes bacterianos. De esta forma se lleva a cabo un experimento para exponer el cultivo de microorganismos en una placa de agar a una hoja que contiene una serie de antibióticos o un orificio abarcado del antimicrobiano. Después de 18-24 horas de preparación, el tamaño del área de reemplazo se graba cerca del disco. Esta área de inhibición sugiere que los métodos antibacterianos matan las bacterias. La presencia de componentes inhibidores o zonas de inhibición concluye la sensibilidad o tolerancia del microorganismo. (44)

#### **2.2.10. Curva de crecimiento**

Si se cultiva en una zona de siembra líquido con células microbianas, indicadas para la siembra que preliminarmente ha desarrollado hasta la congestión, y se mide en rangos de población, también muestra la patogenia de la proliferación celular en función del tiempo. Hay cuatro etapas en el crecimiento bacteriano.

##### **a) Fase de latencia o de retraso**

Cuando una cantidad de microorganismos es sembrada en un medio, el progreso generalmente no comienza de inmediato, sino después de un tiempo a lo que se le llamará fase de latencia ya sea corta o larga, según los valores. Cuando una siembra en desarrollo se divide en una región con las mismas características de desarrollo, no se observa pérdida de tiempo y se sigue la tasa de crecimiento.

##### **b) Fase exponencial**

La tasa de proliferación más alta es la conclusión del hecho de que cada célula se multiplique en dos y cada una de las cuales se reproduce para crear dos células más, y así continuamente, pero la rapidez de la tasa de proliferación es diferente de un organismo a otro.

##### **c) Fase estacionaria.**

Es posible que algunos de los nutrientes esenciales sean escasos o se acaben o que algunos de los desechos producidos en el área hayan alcanzado el nivel de desarrollo destructivo actuando como inhibidor y para el desarrollo elevado. En esta fase se comporta como un período fijo, no hay un número adicional de células. Sin embargo, aunque no hay desarrollo durante este período de tiempo, la mayoría de las funciones de la célula continúan desarrollándose y contienen energía y otros procesos de la vida celular.

#### **d) Fase de la muerte.**

Si la incubación ocurre tan pronto como la proliferación alcanza un cierto punto, las células morirán, pero pueden continuar viviendo. Si ocurre lo segundo, la población está al nivel de la muerte. En particular, estas medidas reflejan lo que sucede en la población general, pero no en las células individuales. Se denominan pasos de demora, aparición, cese o muerte y consumen más células que cámaras individuales. (42, 43, 44)

#### **2.2.11. El Cepario**

El proceso de valoración es una mejora necesaria para garantizar que las características de calidad de las pruebas se prueben tanto en uso comercial como clínico. Esta prueba se puede utilizar como un sistema de diagnóstico en un laboratorio. Gran parte del desarrollo de patógenos clínicos depende de patógenos viables, idóneos para conservar sus propiedades morfológicas, fisiológicas y que sean comunes y replicables. Para respaldar esta comprobación, las cepas estables son un factor importante en el desarrollo de la calidad y validación.

Podemos encontrar muchas cepas utilizables para la vigilancia de calidad. Algunos ejemplos son:

- 1) ATCC : American Type Culture Collection - Rockville. USA.
- 2) NCIC : National Collection of Industrial Bacteria - Surrey. Inglaterra.
- 3) JFCC : Japanese Federation of Culture Collection of Microorganism – Japón
- 4) CCTM : Collection Nacional - Lille, Francia
- 5) RIA : USSR Research Institute for Antibiotics - Moscú, Rusia.

6) NCIB : Colección Nacional Industrial - Aberdeen, Escocia.

7) DSM : Deutsche Sammiug Von Mikroorganismen - Guttinger. Alemania.

Se utilizan cepas ATCC con regularidad. Es importante tener un historial genético que incluya el nombre, la zona de aislamiento, la respuesta bioquímica y el sistema de sensibilidad a antibióticos, el método de almacenamiento, la última fecha del trasplante, etc.

Las cepas deben tener características específicas:

- 1) Características típicas.
- 2) Características estables.
- 3) Reproducibilidad.

#### **2.2.12. Cepas atcc**

**La ATCC (colección de cultura tipo EE. UU.)** Es la combinación más completa del mundo. Estos tipos de virus se pueden usar como procesadores para una variedad de usos, lo que le da una idea del nivel de confiabilidad de una empresa o industria manufacturera en el laboratorio

#### **2.2.13. Mantenimiento del cepario**

Por ello, se presta especial atención a la gestión del cepario para asegurar la profesionalidad del equipo, equipos y personal. Lista de métodos requeridos para diferentes tipos de rutas de siembra, cada cultivo, propiedades químicas, antibacterianas, método de identidad, fecha de siembra y trasplante posterior.

#### **2.2.14. Cuantificación del crecimiento microbiano**

El análisis estadístico es fundamental para el desarrollo continuo del patógeno. Por lo tanto, se puede usar cualquier medida para determinar la tasa de crecimiento de cualquier biomasa. Por conveniencia, la propiedad suele ser la masa celular o la cantidad de las células. Las estadísticas se pueden realizar visualmente para determinar la cantidad de bacterias, ya que pueden detectar incluso a un organismo vivo factible en una suspensión. Otro método es una forma eficaz de calcular la cantidad de luz que distribuye una

detención célula. Esto se basa en el hecho de que las partículas pequeñas proporcionan luz en el rango apropiado. Cuando la luz entra en una infección bacteriana, la cantidad promedio de luz que protege la distribución es una medida del tamaño de la célula que cuenta las partículas que toman las cosas. El espectrofotómetro se usa para estimar la población y la cantidad de células por unidad de volumen de la limitación. El número de células bacterianas se determina mediante recuento microscópico en el espacio excavado de longitudes bien conocidas (incluso profundas), determinando el número de células que comprenden a células posibles y no posibles. (45)

#### **2.2.15. Medición de la actividad antibacteriana**

La actividad antibacteriana se calcula identificando la resistencia bacteriana más baja para prevenir el crecimiento de las bacterias probadas. Una de las formas en el reconocimiento de concentración baja inhibitoria (CMI); es usando las pruebas de sensibilidad.

#### **2.2.16. Reconocimiento de la sensibilidad bacteriana:**

##### **a) Método turbidimétrico**

Intente encontrar dos soluciones y desarrolle antibióticos (1, 2, 4, 8, 16, etc.)  $\mu\text{g/mL}$ , al sembrar una suspensión bacteriana sobre estos medios, por momentos se verá que tiene turbidez áreas en los cuales el antimicrobiano se ve en una forma baja para inhibir el crecimiento y en las otras áreas de siembra donde el antimicrobiano se ve en máxima concentración no hay rastro de turbidez lo que se observa en la bacteria no ha crecido. La terapia antirretroviral sin crecimiento bacteriano es la medida más importante (indicada por la falta de viscosidad) porque es una característica de los antibióticos menos efectivos que limitan el crecimiento bacteriano. Los instrumentos avanzados, como espectrofotómetros y sensores de color, se pueden utilizar en turbidimetría para medir su cultivo a medida que crece. La turbidez se refiere en unidades de absorbancia Para los organismos unicelulares, la absorbancia es aleatoria a la cantidad de células. (46)

##### **b) Método de difusión en placa**

Este método, conocido popularmente como el método Kirby Bauer, es uno de los métodos recomendados por el Comité nacional de estándares de laboratorio clínico (NCCLS) para identificar el acceso fácil a los antibióticos.

De esta forma, se examina el efecto de uno o más agentes antibacterianos sobre (agar Mueller-Hinton) que contiene un número limitado de patógenos, para luego poner papel filtro impregnados con el agente antibacteriano y bacterias.

Después de llegar al tiempo de preparación, cuando las bacterias se propagan a un lugar húmedo, se crea un área de sensibilidad o resistencia bacteriana (inhibición del halo) y el área continúa desarrollándose a partir del disco a medida que crece el virus. (46)

## **2.3. Bases conceptuales**

### **2.3.1. Ozono**

El **ozono** (O<sub>3</sub>) es un gas inestable, que está formado por 3 átomos de oxígeno (O). El **ozono** médico es una mezcla de un 5% como máximo de **ozono** y un 95% de oxígeno

### **2.3.2. Agua bidestilada**

Líquido incoloro, claro y limpio. Estéril y apirógeno. Indicaciones: El agua bidestilada se usa principalmente como solvente de medicamentos de uso parenteral.

### **2.3.3. Enterococcus faecalis**

Los enterococos son microorganismos anaerobios facultativos grampositivos. El *Enterococcus faecalis* y el *E. faecium* causan diversas infecciones, entre ellas endocarditis, infecciones urinarias e intraabdominales, prostatitis, celulitis e infecciones de las heridas, así como bacteriemias concurrentes.

## 2.4. Bases filosóficas

La investigación corresponde a la perspectiva metodológica cuantitativa que se sustenta en el paradigma positivista, que tiene como uno de sus mejores exponentes a los filósofos más destacados del siglo XIX, entre ellos a Auguste Comte quien nos brinda la certeza del comprobante científico, esta mirada de solo ser objetivo es lo planteado desde un inicio por el ser humano, es decir, aquello que es palpable y comprobable.

Comte, usualmente el iniciador del positivismo y de la sociología científica, nos dice en su relato que el corazón de su doctrina es la ley de las tres etapas, que fue formulada en las obras de su juventud. Contiene sus críticas a la religión y la metafísica, y su declaración de positivismo.

Paradójicamente, esta postura teórica es una "filosofía anti-filosófica", que reflexiona como conocimiento auténtico sólo el conocimiento científico-experimental, expresando superficial e infructuosa la pretensión sapiencial de la filosofía. La doctrina de Comte aparece asimismo del ensayo de reconstruir el orden social de su tiempo. Por lo tanto, esperaba que, con la expansión del conocimiento científico, la orientación popular en las ciencias y la riqueza, se lograría una sociedad pacífica. Dando a lo particular un sosiego para logra estabilidad dentro de la sociedad aun en plena revolución, teniendo en cuenta que la información comprobada, llamada ciencia, podría brindar un orden lógico que permita a la misma sociedad elegir, descartar, priorizar, sanar entre otros.

Desde entonces se ha dado a la tarea de construir la unidad del saber poniendo la ciencia como fundamento. Comparado con el Iluminismo del siglo XVIII, el positivismo del siglo XIX tenía la prerrogativa de dominio describir a un complejo de ciencias más perfeccionadas. Fue el tremendo desarrollo del conocimiento científico que tuvo lugar en el siglo XIX lo que le dio al positivismo la impresión de que la ciencia podía abarcar de manera integral y definitiva todos los aspectos de la realidad, incluida la naturaleza y las personas, reemplazando cualquier otra forma de conocimiento. (47)

El carácter esencial de la filosofía positiva reside, pues, considerar los fenómenos regulados por leyes inmutables de la naturaleza; Se descarta la cuestión de la causa, valorándose como un problema inexistente. Para Comte, el objetivo de la ciencia es la predicción: "saber para predecir": "savoir pour prévoir". (48)

Teniendo en cuenta que la ciencia, para el positivismo debe continuar hasta poder exponer variables que invariables, es de este modo que el presente trabajo de investigación basa su fundamento en utilizar una materia de la naturaleza, material que dentro del sistema de conductos de las piezas dentarias permita la eliminación de bacterias, en especial la *Enterococcus faecalis*, considerado por la literatura como el agente encontrado en la mayoría de fracasos de tratamientos de conducto, con un gas como el ozono que a su vez pueda actuar sobre agua bidestilada en una concentración de 92.5 ug.

## **2.5. Bases epistemológicas**

El positivismo científico o positivismo es un sistema filosófico que sostiene que no existe otro conocimiento que el que proviene de hechos reales verificados por la experiencia, negando así la posibilidad de que la teoría pueda ser fuente de conocimiento y la filosofía pueda contribuir al conocimiento científico. (49)

El positivismo influyó en intelectuales como Marx, Engels o Durkheim, y en 1925 nació en Viena otro pensamiento, el de la neo positivismo de la que pasó a conocerse como el círculo de Viena, o la segunda escuela del positivismo (positivismo lógico), en el que la idea céntrica entre los miembros de este círculo sostiene que la ciencia es la única forma verdadera de conocimiento y nada se puede conocer más allá de lo que se corrobora mediante el método científico. Por lo que, la sociedad se pone bajo el señorío de la ciencia y todos los aspectos de la vida humana deben ser confirmados por la investigación científica (Murea & Josan, 2014). Según Kincheloe y Tobin (2009), el positivismo lógico, siendo una forma de empirismo, adoptó el postulado que todo conocimiento debe someterse a la verificación lógica y experimental, es decir, la premisa de que algo tiene sentido si y solo si es verificable empíricamente. Los conceptos del conocimiento están total o parcialmente basados en la experiencia a través de los sentidos y la introspección. Ante esto podemos decir que la base del conocimiento cuantitativo y cualitativo es el positivismo el mismo que se sustenta en que la única forma de exponer conocimiento es la experimentación y la comprobación, todo lo demás es especulación. (50)

Para poder hablar de la salud es necesario saber de la enfermedad, un dolor ocasiona que la salud no sea completa; enfocándose en la boca muchas veces poco apreciada hasta que el ser humano experimenta dolor, quizá se pueda considerar una pieza dentaria y aún más los componentes de la misma. Si al realizar el diagnóstico de una pieza dentaria se llega

a considerar como procedimiento para recuperar la salud de esa pieza el tratamiento de conductos (endodoncia) que según la asociación americana de endodoncia es la rama de la odontología en relación a la pulpa y los tejidos que rodean las raíces de un diente, dando como efecto quitar la vitalidad de la pieza, Esta forma, técnica y procedimiento debe realizarse en el marco del proceso científico, alcanzando la percepción de lo inductivo para la resolución de este trabajo de investigación.

Siendo conocedores que la práctica de la odontología es entre 2 a 3 siglos a.c. es la práctica de la extracción de la pulpa dentaria la que da una gran ventaja al ser humano al poder conservar la pieza, la misma que se mantiene funcional y eficaz para el compromiso de alimentación y así procurar sustento de la nutrición para el ser humano. (51)

La endodoncia fue practicada en la antigua cultura China aplicaban arsénico asociado a "Hovang-Tan" (excrementos de murciélago) en el fondo de las cavidades con el fin de "matar gusanos" que, según ellos, habitaban en el interior de los dientes. (52)

En la Grecia clásica, Hipócrates practicó la cauterización introduciendo finas agujas calientes en el interior del diente, así como aceite hirviendo o fomentos de apio y beleño. (53)

La Endodoncia ya fue practicada desde el siglo 1, cuando Arquígenes describe por primera vez un tratamiento para la pulpitis: extirpación de la pulpa para conservar el diente y para aliviar el dolor. (54)

Bowman en 1867, emplea por primera vez los conos de gutapercha, para la obturación de los conductos radiculares; mientras que Howard en 1874 preconizaba la gutapercha disuelta en cloroformo (cloropercha) para el mismo objetivo. En ese mismo año Magitot sugiere el uso de una corriente eléctrica para la prueba de la vitalidad de la pulpa. (55)

Siendo observada la línea de tiempo en avance del tratamiento de conductos es así también que la misma debe verse hoy con un nuevo material de irrigación que sea de beneficio al ser humano y de tener mayor eficacia en la eliminación de bacterias y en especial la presentada en el trabajo de investigación que es el *Enterococcus Faecalis*, así como el ozono, un gas de olor acre e incoloro que al ser mezclada con el agua bidestilada se podría utilizar como irrigante en los conductos.

## 2.6. Bases antropológicas

El funcionalismo corresponde a aquellas corrientes teóricas de las ciencias sociales de mayor antigüedad. Y si bien es cierto reconocen en Durkheim como uno de los fundadores de este pensamiento, hay algunas posiciones que, consideran a Auguste Comte (1875) como uno de sus padres fundadores. Lo cierto es que el pensamiento funcionalista está extremadamente arraigado en la estructura de las ciencias sociales y, a pesar de su continua crisis de popularidad, sus temas y conceptos difícilmente pueden ser ignorados. Donde sea que se marque el inicio de este pensamiento, en la filosofía positiva de Auguste Comte o en los escritos de Émile Durkheim 1893, es solamente con la antropología social británica de principios del siglo veinte que se estabiliza una corriente teórica distinguible como tal.

A pesar de todos los ataques, el hecho de que el funcionalismo no haya desaparecido por completo del panorama teórico de las ciencias sociales puede ser indicativo de su supervivencia, por más enferma que se vea, porque aún se desconocen otras soluciones a sus problemas más profundos. A diferencia de las corrientes teóricas válidas -como el llamativo evolucionismo antropológico o las fallidas teorías posmodernas- el funcionalismo es, para bien o para mal, sólida. 50

Este pensamiento explica la constancia de las prácticas de la sociedad al describir a los efectos (generalmente no deseados) como conducentes al equilibrio o la integración del sistema social en el que se enmarcan estas prácticas. Segundo, el funcionalismo enmienda el concepto de racionalidad: supone que en alguna práctica es evidente, los objetos no racionales son inteligibles cuando se captan sus funciones sociales. En tercer lugar, el funcionalismo utiliza el concepto de requisitos funcionales. la tesis es a menudo que estas exigencias deben cumplirse para que una especie exista. una sociedad determinada deberá funcionar de manera que esas necesidades tiendan a satisfacerse. En ese entender y tomando en consideración esta explicación de que todo organismo de una sociedad tiene una determinada función para que esta permanezca es que proponemos que, a lo largo del tiempo, el individuo como persona y ser humano ha intentado revelar y comprender lo que sucede en él y en su entorno como ser vivo. Sus raciocinios y concepciones siempre han sido espontáneos del momento y de la realidad en que vive; en ese entender nuestro trabajo pretende ocuparse del proceso éxito fracaso, toda vez que uno podría conllevar al otro, dicho en palabras “éxito es la no existencia del fracaso”, intentando demostrar con

nuestro estudio que, el agua bidestilada ozonizada tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212, lo que podría ser usado de ser así como irrigante intraconducto en tratamientos endodónticos con mucho beneficio, lo que permitiría cumplir con la premisa de esta corriente funcionalista. 51

## CAPÍTULO III

### SISTEMA DE HIPÓTESIS

#### 3.1. Formulación de las hipótesis

##### 3.1.1. Hipótesis general

- Hi: El agua bidestilada ozonizada tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212
- Ho: El agua bidestilada ozonizada NO tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212

##### 3.1.2. Hipótesis específicas

###### Hipótesis específica 1

- Hi: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por dos minutos
- Ho: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto no tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por dos minutos

###### Hipótesis específica 2

- Hi: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos
- Ho: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto no tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos

###### Hipótesis específica 3

- Hi: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por seis minutos
- Ho: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto no tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por seis minutos

#### **Hipótesis específica 4**

- Hi: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minuto tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por dos minutos
- Ho: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minuto no tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por dos minutos

#### **Hipótesis específica 5**

- Hi: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minuto tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos
- Ho: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minuto no tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos

#### **Hipótesis específica 6**

- Hi: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minuto tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por seis minutos
- Ho: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minuto no tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por seis minutos

#### **Hipótesis específica 7**

- Hi: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minutos tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por dos minutos
- Ho: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minutos no tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por dos minutos

#### **Hipótesis específica 8**

- Hi: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minutos tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos
- Ho: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minutos no tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos

#### **Hipótesis específica 9**

- Hi: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minutos tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por seis minutos
- Ho: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minutos no tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por seis minutos

## 3.2. Operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIÓN	INDICADOR	ESCALA
<b>VARIABLE INDEPENDIENTE</b>					
<b>Agua bidestilada ozonizada</b>	Principio activo obtenido a mediante el procesamiento del agua bidestilada ozonizada	Sustancia resultante a partir del cual inhibe el crecimiento del microorganismo en diferentes concentraciones	Concentración inhibidora del biocida, concentraciones del agua ozonizada 1 minuto 15 minutos y 30 minutos	Agua ozonizada en diferentes concentraciones	Nominal
<b>VARIABLE DEPENDIENTE</b>					
<b>Crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212</b>	Inhibición del crecimiento y desarrollo de la cepa patrón de Enterococcus Faecalis	Disminución e inhibición del crecimiento y desarrollo de una cepa liofilizada de Enterococcus Faecalis, por medio por medio de la observación de halos de inhibición	2 m 4m 6 m	<b>UFC/ml</b> Enterococcus Faecalis ATCC 29212 <b>HALO DE INHIBICIÓN</b> Medido en mm de diámetro formado	Intervalo

### **3.3. Definición operacional de las variables**

#### **VARIABLE INDEPENDIENTE**

Agua bidestilada ozonizada. Sustancia resultante a partir del cual inhibe el crecimiento del microorganismo en diferentes concentraciones.

#### **VARIABLE DEPENDIENTE**

Crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212. Disminución e inhibición del crecimiento y desarrollo de una cepa liofilizada de *Enterococcus Faecalis*, por medio de la observación de halos de inhibición.

## CAPÍTULO IV

### MARCO METODOLÓGICO

#### 4.1. **Ámbito de estudio**

En el laboratorio de biología de la Universidad Andina del Cusco

#### 4.2. **Tipo y nivel de investigación**

##### **Tipo de investigación**

##### **Tipo: Aplicado**

Porque es un estudio enfocado en encontrar otras formas y estrategias que puedan ayudarlo a alcanzar sus metas, como curar una enfermedad o encontrar la utilidad de algún elemento.

##### **In vitro**

Porque la investigación se realizó utilizando el desarrollo bacteriano en medios de cultivo y se llevó a cabo en un laboratorio.

##### **Nivel de investigación**

##### **Nivel: Experimental**

Método de investigación cuantitativa principal, Prueba de laboratorio. Siempre que la investigación se realice bajo condiciones científicamente aceptables. Teniendo tres elementos científicos que las caracterizan: control, manipulación y observación. Se tiene un grupo de control (es decir, un grupo en el que las variables no se manipulan).

#### 4.3. **Población y muestra**

##### **4.3.1. Descripción de la población**

Cepa patrón *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 obtenidas del laboratorio Microbiológicos<sup>®</sup>, mediante GenLab del Perú SAC.

### 4.3.2. Muestra y método de muestreo

Cultivos de *Enterococcus Faecalis* ATCC® 29212™\*

25 muestras repartidas de la siguiente manera:

- 05 para el grupo de control negativo
- 05 para el grupo de control positivo
- 05 muestras para el grupo A
- 05 muestras para el grupo B
- 05 muestras para el grupo C

### 4.3.3. Criterios de inclusión y exclusión

#### Criterios de inclusión

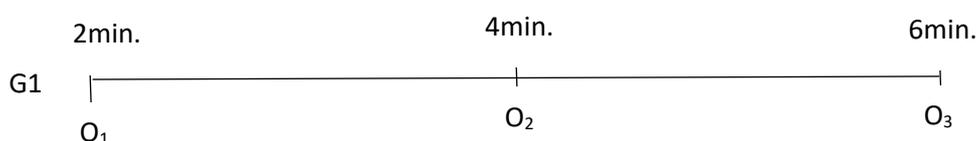
- Cepa patrón *Enterococcus Faecalis* ATCC® 29212™\*
- Cepa patrón *Enterococcus Faecalis* ATCC® 29212™\* obtenidas del laboratorio Microbiológicos®, mediante GenLab del Perú SAC.
- La cepa ATCC 29212 se acopiará en un medio de enfriamiento normal (2-8 °C) a partir del momento de su adquisición hasta su reactivación.
- Cepa patrón *Enterococcus Faecalis* ATCC® 29212™\*, reactivadas en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Andina del Cusco.

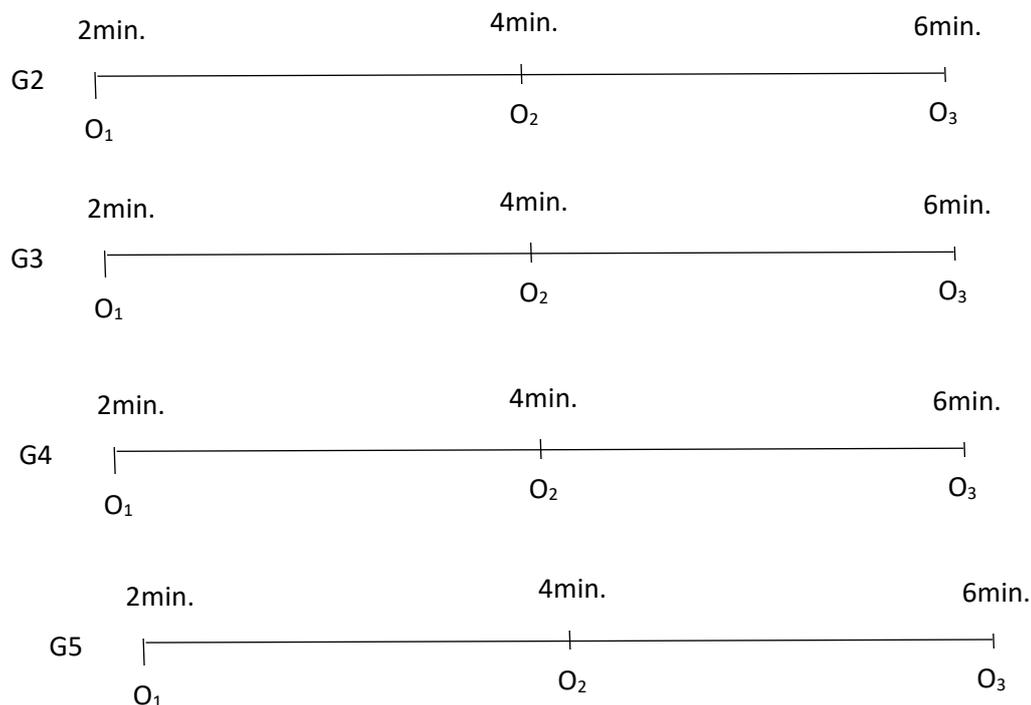
#### Criterios de exclusión

- Cepas que no correspondan a la cepa seleccionada
- Cepas que no hayan sido almacenadas y reactivadas según parámetros de laboratorio

## 4.4. Diseño de investigación

El estudio será longitudinal debido a que se puede estudiar y evaluar al mismo grupo por un período de tiempo.





### Descripción del procedimiento

- Periodo de análisis: a 2 minutos, 4 minutos y 6 minutos, en sus diferentes concentraciones
- Concentración del agua ozonizada: 1 minuto, 15 minutos, 30 minutos con un equipo de ozono médico a efecto máximo de 92,5 microgramos (ug)
- Condiciones de cultivo: 37 ° C
- Ambiente: Anaerobio

## 4.5. Técnicas e instrumentos

### 4.5.1. Técnicas

Para la ejecución del presente estudio de investigación se usará la observación, la que permitirá realizar un recuento del *Enterococcus Faecalis*; asimismo calcularemos el halo de inhibición del microorganismo, al igual que realizaremos su correspondiente descripción para el registro de los datos conseguidos.

#### **4.5.2. Instrumentos**

Ficha de observación de datos (anexos)

#### **Obtención de la muestra**

- Se trabajará con la cepa *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 (American Type Culture Collection), obtenida del laboratorio Microbiológicos<sup>®</sup>, mediante GenLab del Perú SAC.
- La cepa ATCC 29212 se acopiará en un medio de enfriamiento normal (2-8 °C) a partir del momento de su adquisición hasta su reactivación en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Andina del Cusco.

#### **Procedimiento**

##### **Preparación de los caldos y medios de cultivo**

Se utilizó los medios de cultivo caldo BHI (Brain Heart Infusion) y Agar Müeller-Hinton enriquecido en sangre.

##### **Preparación del medio de cultivo caldo BHI (Merck)**

Se siguió las indicaciones del fabricante las cuales son las siguientes: Disolver 37 gramos de medio en 1 litro de agua desmineralizada (agua destilada), dejar reposar por 5 minutos hasta obtener una mezcla homogénea. Poner (alícuotar) en recipientes más pequeños y se esterilizó en autoclave a 121 °C por 15 minutos.

##### **Preparación del medio de cultivo agar müeller-hinton enriquecido en sangre**

Se siguió las indicaciones del fabricante las cuales son las siguientes: Disolver 34 gramos en 1 litro de agua desmineralizada (agua destilada). Calentar en baño de agua hirviendo y agitar con frecuencia hasta la disolución completa. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Dejar enfriar a 45 - 50° C e introducir por mezcla 50 – 100 mililitros de sangre desfibrilada, añadir mezclando y sin formación de burbujas, mezclar hasta homogenizar totalmente; se distribuyó en placas Petri estériles con una medida no mayor a 4 mm o 25 ml de agar en cada placa

aproximadamente y se dejó solidificar. Por último, mantuvo en refrigeración en 4 °C evitando su congelación.

### **Control de calidad de los medios de cultivo**

Se incubó los caldos y medios de cultivo, examinando visualmente para asegurarse de que los defectos físicos existentes no interfirieran con el uso. Se incubó los medios de cultivo sin inocular, a 37°C por 24 horas, examinado después de la incubación (tiempo mencionado) en busca de contaminación microbiana.

### **Reactivación de la cepa bacteriana**

Se siguió las indicaciones de la casa comercial Microbiológicos, las cuales son las siguientes:

- Deje que la bolsa de KWIK-STIK sin abrir se adapte a la temperatura ambiente. Abra la bolsa rasgando a la altura de la muesca y quite la unidad de KWIK-STIK.
- Retire la porción de la etiqueta de tirar y rasgar y colóquesela a la placa de cultivo principal o al registro de CC. No desarme el dispositivo durante la hidratación.
- Sobre el borde de la mesa de trabajo o la encimera, agriete la ampolla en la parte superior de KWIK-STIK (justo debajo del menisco del líquido) para liberar el líquido hidratante.
- Manténgalo vertical y golpee suavemente sobre una superficie dura para facilitar el flujo del líquido por el mango hasta la parte inferior de la unidad que contiene el gránulo.
- Apriete la parte inferior de la unidad para que el gránulo se disuelva en el líquido hasta lograr una suspensión homogénea.
- De inmediato, sature el hisopo abundantemente con el material hidratado y transfíralo al medio con agar correspondiente o utilícelo según el procedimiento operativo estándar del laboratorio.

- Inocule la placa de cultivo principal girando con suavidad el hisopo sobre un tercio de la placa.
- Por medio de un asa esterilizada, haga estrías para facilitar el aislamiento de la colonia.
- Descarte el KWIK-STIK de forma apropiada para desechos de riesgo biológico.
- De inmediato, incube la(s) placa(s) invertida(s) de cultivo principal inoculada(s) a temperatura y en condiciones apropiadas para el microorganismo.

### **Inoculación y siembra de *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 en caldo BHI**

En cada tubo de ensayo con caldo BHI se colocó con la ayuda de un asa de siembra 1 colonia de cepas *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, en los cuales se inoculará no más de 10 colonias bacterianas.

### **Cultivo**

El cultivo se mantuvo a un ambiente anaerobio a 37°C por 30 horas, de acuerdo a las especificaciones de la casa comercial Microbiológicos.

### **Creación del ambiente anaerobio**

Para la reactivación de la cepa se procedió a agregar uniformemente 35 mL de agua destilada sobre una tira de Anaerocult®A según indicaciones del fabricante (Merck), inmediatamente después se colocó dentro de una jarra de anaerobiosis, se cierra herméticamente y después de 30 minutos se consigue un ambiente anaerobio dentro de la jarra.

El *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 fue estudiado mediante espectrofotometría, creándoles un ambiente de anaerobiosis dentro de cada cubeta para un crecimiento ininterrumpido de la misma.

### **Determinación antibacteriana del agua ozonizada**

Se realizó mediante el test de cinética o curvas de letalidad bacteriana, mediante la determinación de las curvas de mortalidad/tiempo, para determinar los efectos del agua ozonizada sobre el *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212.

Este es un método que se realiza en caldo BHI, donde la tasa de muerte de un inóculo fijo es determinado por la muestra control (caldo con microorganismo sin agente antibacteriano) y los microorganismos.

### **Preparación de las soluciones del agua ozonizada a sus diferentes concentraciones**

Concentración del agua ozonizada: 1 minuto, 15 minutos, 30 minutos con un equipo de ozono medico a efecto máximo de 92,5 microgramos (ug)

### **Curvas para determinar la actividad antibacteriana mediante la inoculación de concentraciones de agua ozonizada mediante cinética de muerte o de letalidad**

Curva de vida (CV): O curva de crecimiento para lo cual se agregó de caldo 2901  $\mu\text{L}$  de BHI y 99  $\mu\text{L}$  de inóculo de *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 realizando el estudio en diferentes recipientes.

Curva de muerte (CM): A los demás micro biorreactores se agregó diferentes volúmenes en microlitros de caldo BHI y agua ozonizada de acuerdo a las concentraciones deseadas mezclándolas con 99  $\mu\text{L}$  de inóculo *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212. Las cantidades de todas las muestras deberán tener la misma cantidad de 3000  $\mu\text{L}$  en total para que la comparación sea de forma igual y homogénea.

### **Crecimiento y recuperación de la viabilidad de la cepa estándar *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212**

Para poder realizar el presente trabajo con esta cepa se tomó en cuenta los protocolos recomendados por Microbiológicos®,

- En un tubo de ensayo se cultivó, rehidratando con caldo infusión cerebro corazón (BHI) y cloruro al 10%.
- En dicho cultivo se sembró el microorganismo motivo de nuestro estudio *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212.

- Luego se incubo el microorganismo hasta llevarlo a fase logarítmica, lo que permita poder realizar la observación y toma de nuestra muestra.

**Curva de crecimiento de la cepa estándar** Enterococcus Faecalis ATCC 29212 Se efectuó un traspaso de colonias de Enterococcus Faecalis ATCC 29212 a una placa Petri con agar Bilis Esculina.

Para comenzar el procedimiento de medición de la efectividad del agua ozonizada se realizó lo siguiente:

- ✓ Para el grupo de control negativo que será 1000 microlitros caldo BHI sin aplicación del ozono.
- ✓ Para el grupo A se le aplicará 200 microlitros de agua ozonizada preparada a una concentración de un minuto a 750 microlitros de caldo BHI y 50 microlitros de caldo BHI con cepa de Enterococcus Faecalis derivado de ATCC 29212.
- ✓ Para el grupo B se le aplicará 200 microlitros de agua ozonizada preparada a una concentración de quince minutos a 750 microlitros de caldo BHI y 50 microlitros de caldo BHI con cepa de Enterococcus Faecalis derivado de ATCC 29212.
- ✓ Para el grupo C se le aplicará 200 microlitros de agua ozonizada preparada a una concentración de treinta minutos a 750 microlitros de caldo BHI y 50 microlitros de caldo BHI con cepa de Enterococcus Faecalis derivado de ATCC 29212.
- ✓ Para el grupo de control positivo se usará 200 microlitros de hipoclorito de sodio 2.5 % a 750 microlitros de caldo BHI y 50 microlitros de caldo BHI con cepa de Enterococcus Faecalis derivado de ATCC 29212.

Cabe señalar que en todos los grupos se realizará la lectura de la muestra a los dos, cuatro y seis minutos después de haberse inoculado el agua ozonizada a una incubación constante de 37 grados centígrados.

#### **4.5.2.1 Validación de los instrumentos para la recolección de datos**

Se validó nuestro instrumento al que hemos denominado ficha de observación de datos según el reglamento general de la escuela de posgrado modificado de la UNHEVAL, vigente mediante resolución de consejo universitario N° 0720-2021-

UNHEVAL, para lo cual se tomará el juicio de expertos de cinco especialistas según indica nuestro reglamento, el mismo que detallamos:

1. Soto Bringas Rosario Isabel  
DOCTOR EN CIENCIAS DE LA SALUD  
Fecha de diploma: 03/07/2008
2. León Villalobos Yolanda Victoria  
DOCTOR EN EDUCACION  
Fecha de diploma: 17/08/2012
3. Longa Ramos Eduardo José  
DOCTOR EN CIENCIAS DE LA SALUD  
Fecha de diploma: 07/04/22
4. Herrera Menéndez Cesar Enrique  
DOCTOR EN CIENCIAS DE LA SALUD  
Fecha de diploma: 11/08/2011
5. Lazo Álvarez Julio  
DOCTOR EN ESTOMATOLOGÍA  
Fecha de diploma: 26/02/21

#### **4.5.2.2 Confiabilidad de los instrumentos para la recolección de datos**

Para que nuestro estudio refleje mayor confiabilidad se usará la prueba H de Kruskal-Wallis que es una prueba no paramétrica basada en el rango que puede utilizarse para corroborar si existen diferencias relevantes a nivel estadístico entre dos o más grupos de una variable independiente en una variable dependiente ordinal o continua, además que puede ser usada en muestras pequeñas y nos permitirá comparar más de dos grupos.

#### **4.6. Técnica de procesamiento de datos**

Los datos conseguidos de la ficha de observación de datos fueron procesados en una computadora laptop Lenovo AMD RYZEN 7, mediante un programa estadístico SPSS y la base datos Microsoft Excel. Los resultados obtenidos fueron representados en gráficos y tablas respondiendo nuestros objetivos planteados,

#### 4.7. Aspectos éticos

Si bien es cierto nuestro trabajo no se realizó en humanos o animales para los que se tuvo que hacer uso de consentimientos informados, sin embargo, es necesario remarcar que este trabajo respetó de manera muy acuciosa ideas ajenas realizando las citas correspondientes, así mismo, tuvimos el compromiso de mantener la objetividad de los resultados producto de nuestro estudio.

### ASPECTOS ADMINISTRATIVOS

#### 5.1 Recursos humanos

Investigador : Magister Martín Wilfredo Tipián Tasayco

Asesor : Doctor. Edwin Roger Esteban Rivera

#### 5.2 Recursos materiales o presupuesto

- Laptop
  - Computadora Pentium IV
  - Impresora láser y de tinta
  - Papel bond A4 de 70 g.
  - Lapiceros de tinta líquida color azul y negro
  - Lápiz negro N° 2
  - Refrigeradora
  - Soporte
  - Vaso de precipitado
  - Agua bidestilada
  - Microscopio
  - Autoclave
  - Estufa (incubadora)
  - Etanol Absoluto
  - Matraz Kitasato
  - Embudo Büchner
  - Papel filtro Whatman # 4
  - Rota evaporador (Boeco RVO 400 SD)
  - Horno Pasteur (Memmert)

- Suero fisiológico
- Agua destilada
- Probetas
- Matraz de Erlenmeyer
- Placas Petri
- Pipetas
- Guantes.
- Mascarilla.
- Etanol absoluto Q.P.
- Hisopos estériles.
- Frascos estériles para las muestras.
- Tubos de ensayo con tapa hermética.
- Gradilla.
- Probeta.
- Balanza Analítica
- Refrigeradora
- Incubadora (Binder)
- Autoclave
- Horno Pasteur (Memmert)
- Agitador Orbital de placas (Gemmy VRN – 200)
- Gabinete de Bioseguridad Clase II, (BIOBASE®)

La investigación será autofinanciada.

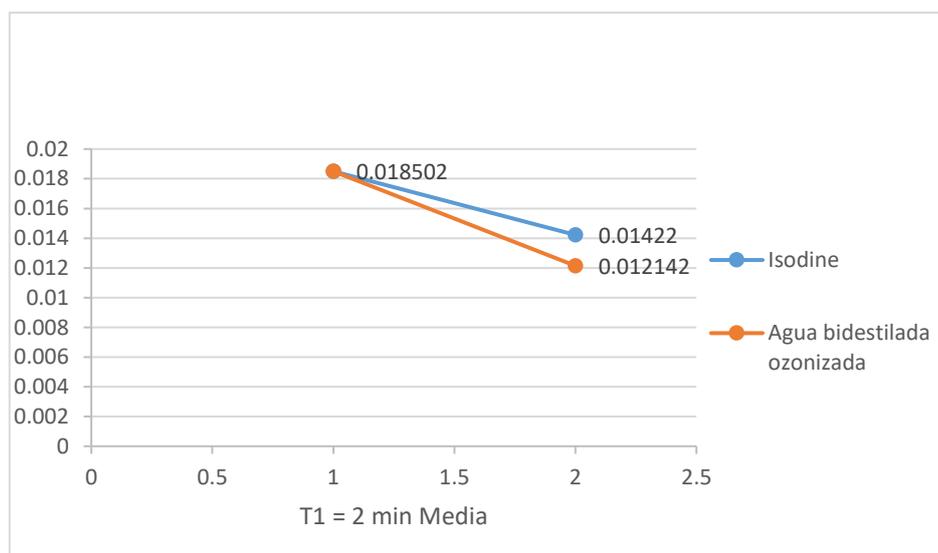
## CAPÍTULO V

### RESULTADOS

#### 5.1. Análisis descriptivo

En este capítulo se desarrolla los resultados de las variables estudiadas, que se despliegan dentro los objetivos de la investigación. Se ha considerado dos (2) variables que se estudiaron.

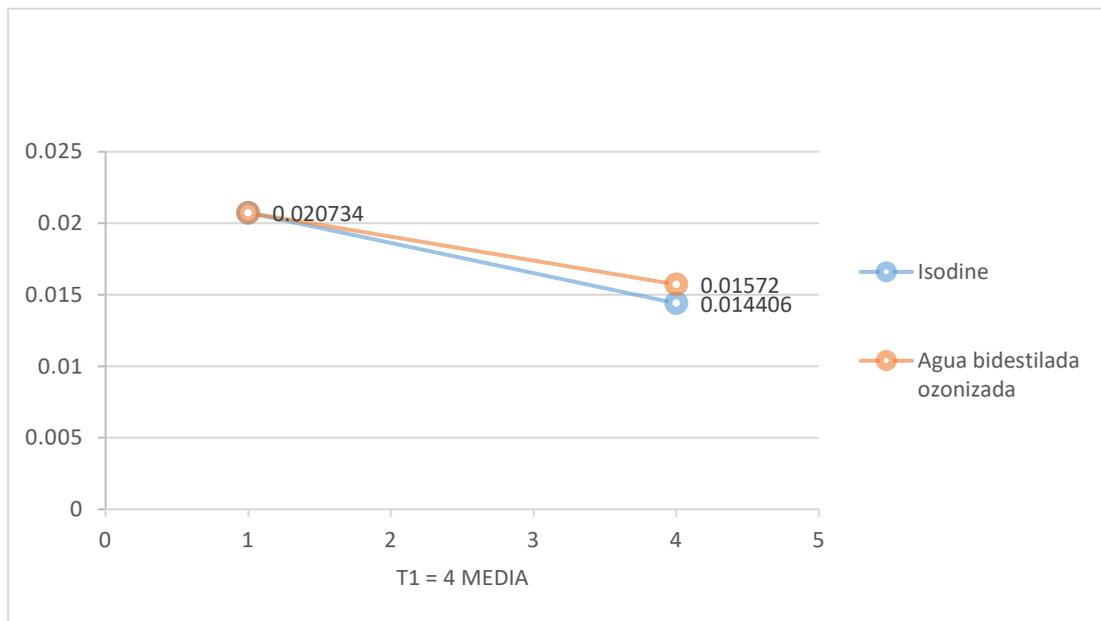
**Gráfico 1: Efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por dos minutos**



Fuente: Procesamiento en SPSS de la base de datos de la aplicación del

En el grafico 01 del análisis efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de un minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por dos minutos, nos indica que existe un mayor efecto en la disminución de la curva de crecimiento del ozono en relación al Isodine que es nuestro grupo control, con 0.0018 de mayor efectividad.

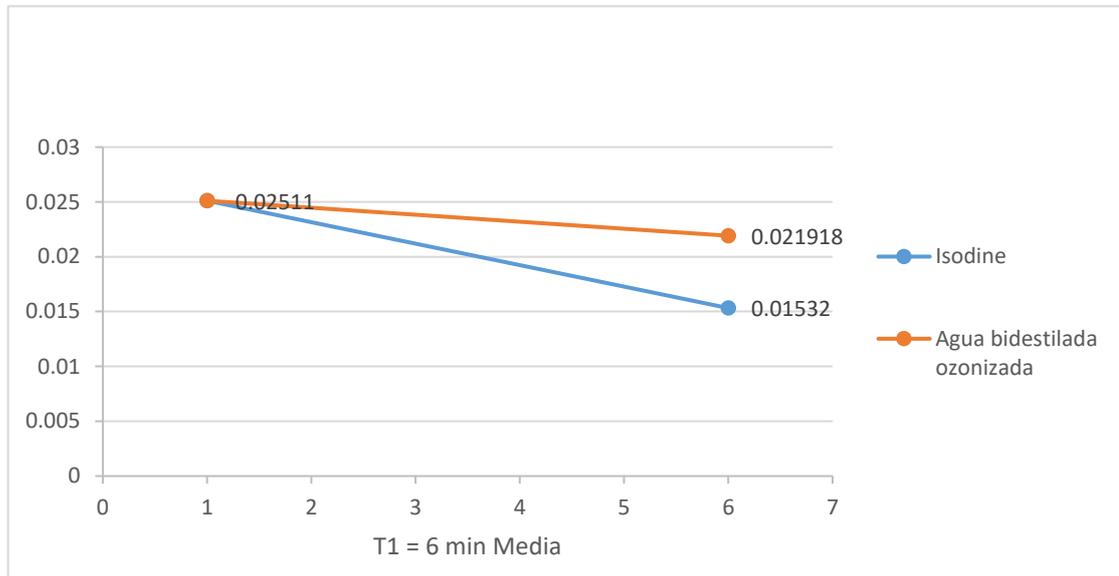
**Gráfico 2: Efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos**



Fuente: Procesamiento en SPSS de la base de datos de la aplicación del instrumento.

En el gráfico 02 del análisis efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de un minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos nos muestra que existe efecto en la disminución de la curva de crecimiento teniendo 0.0001314 de menor efectividad en relación al Isodine.

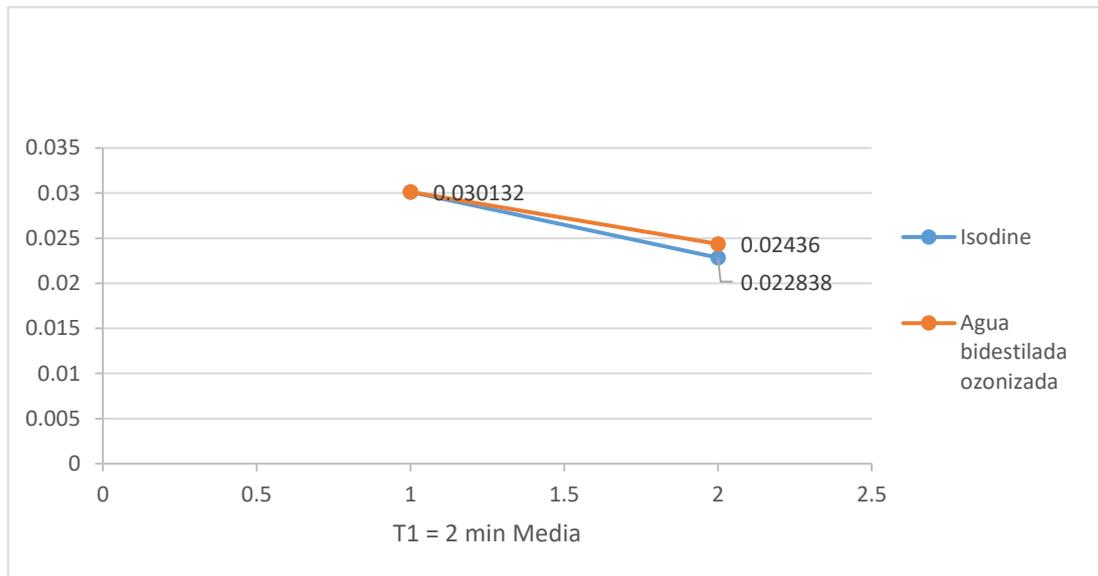
**Gráfico 3: Efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por seis minutos**



Fuente: Procesamiento en SPSS de la base de datos de la aplicación del instrumento.

En el gráfico 03 del análisis efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de un minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por seis minutos nos muestra que existe efecto en la disminución de la curva de crecimiento teniendo 0.006598 de menor efectividad en relación al Isodine

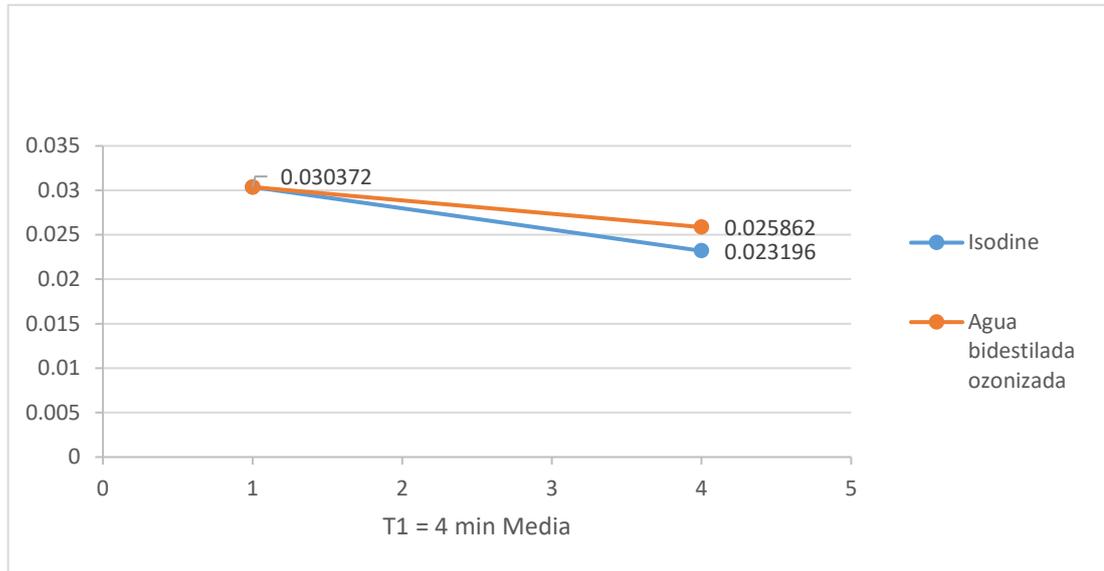
**Gráfico 4: Efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por dos minutos**



Fuente: Procesamiento en SPSS de la base de datos de la aplicación del instrumento.

En el gráfico 04 del análisis efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de quince minutos, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por dos minutos de exposición nos muestra que existe efecto en la disminución de la curva de crecimiento teniendo 0.001522 de menor efectividad en relación al Isodine.

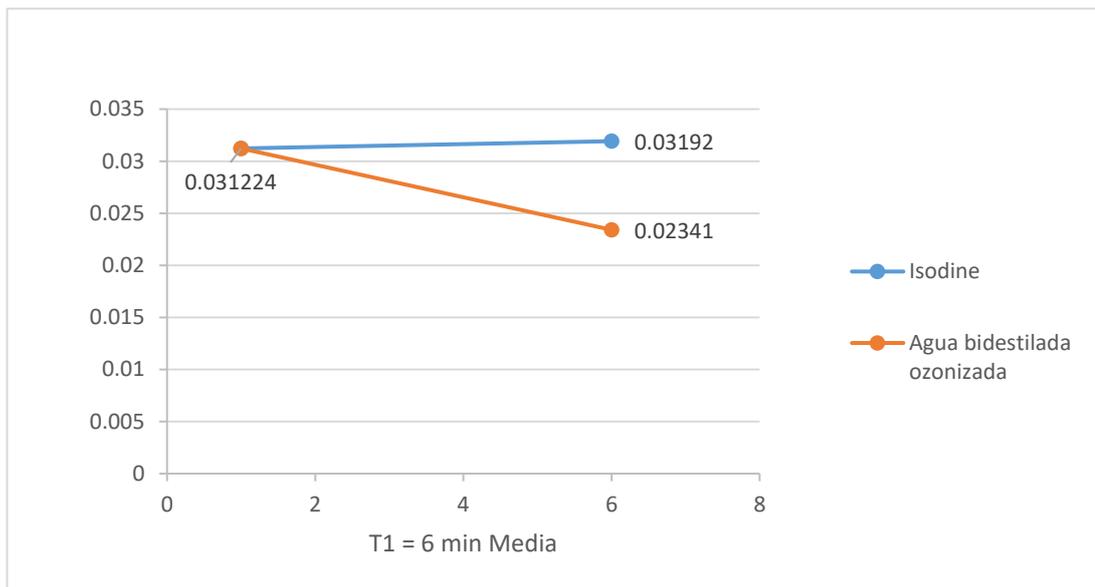
**Gráfico 5: Efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos**



Fuente: Procesamiento en SPSS de la base de datos de la aplicación del instrumento.

En el gráfico 05 del análisis efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de quince minutos, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos de exposición nos muestra que existe efecto en la disminución de la curva de crecimiento teniendo 0.002666 de menor efectividad en relación al Isodine.

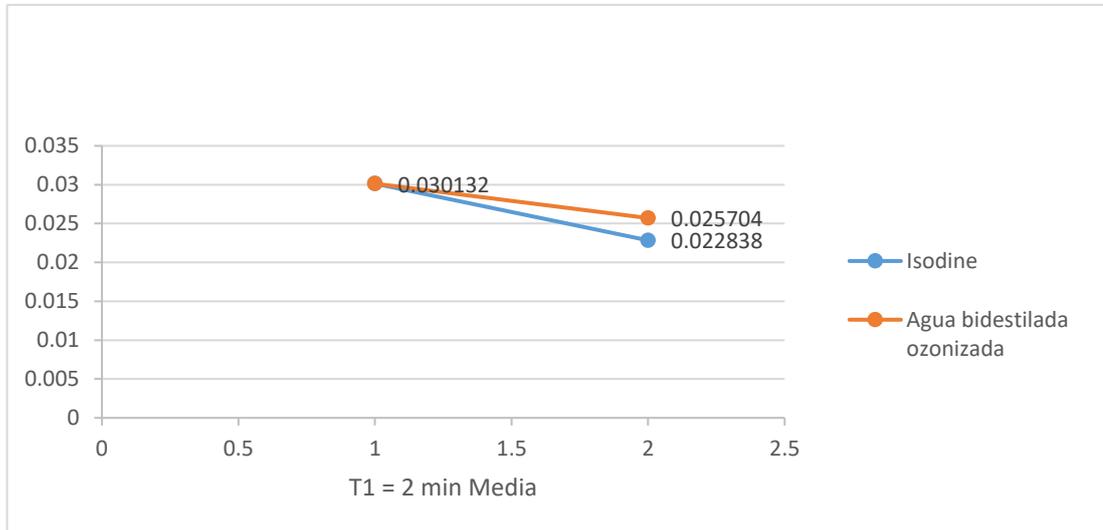
**Gráfico 6: Efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minutos, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por seis minutos**



Fuente: Procesamiento en SPSS de la base de datos de la aplicación del instrumento.

En el gráfico 06 del análisis efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de quince minutos, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por seis minutos, nos indica que existe un elevado efecto en la disminución de la curva de crecimiento, no ocurriendo lo mismo con el Iodine que permite el crecimiento del microorganismo.

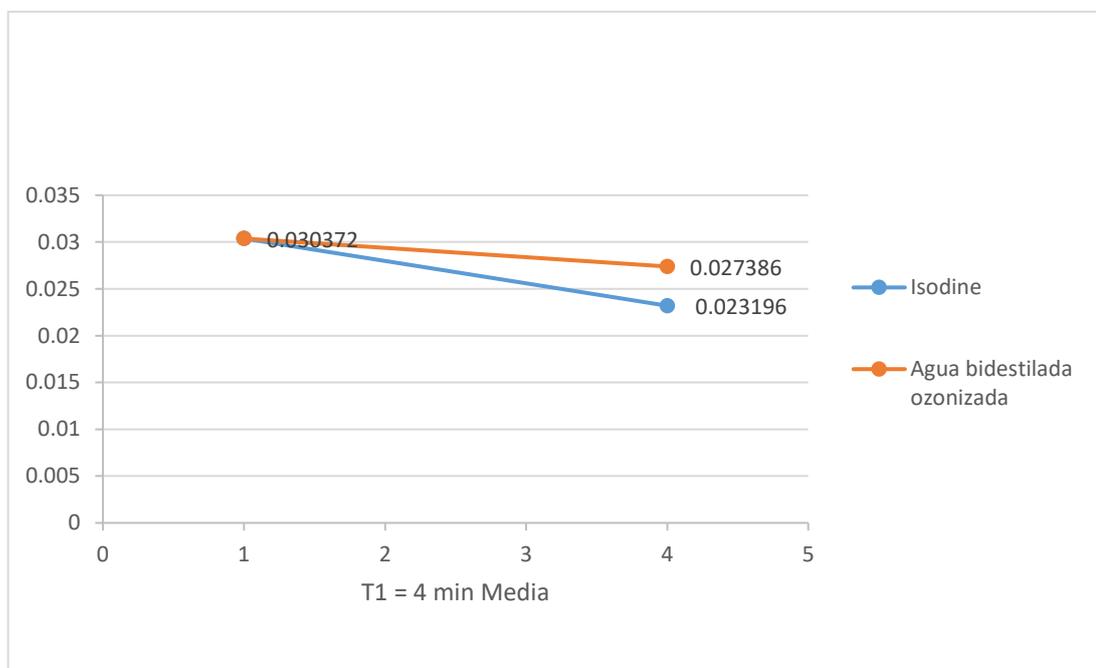
**Gráfico 7: Efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por dos minutos**



Fuente: Procesamiento en SPSS de la base de datos de la aplicación del instrumento.

En el gráfico 07 del análisis efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de treinta minutos, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por dos minutos de exposición nos muestra que existe efecto en la disminución de la curva de crecimiento teniendo 0.002866 de menor efectividad en relación al Isodine.

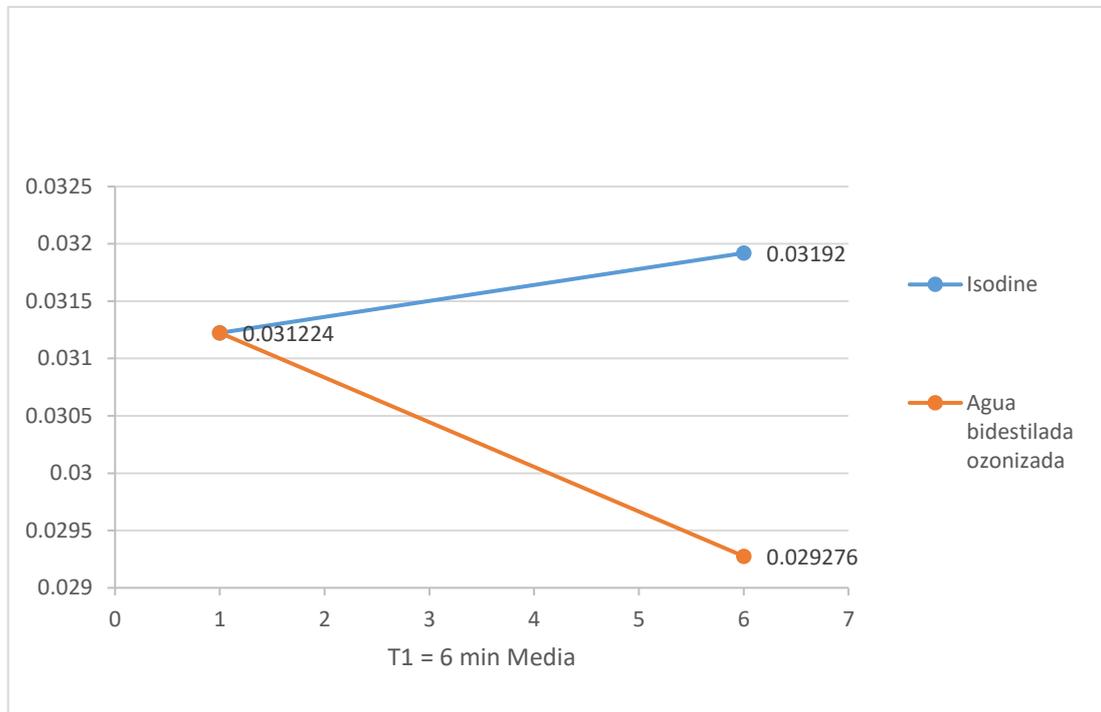
**Gráfico 8: Efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos**



Fuente: Procesamiento en SPSS de la base de datos de la aplicación del instrumento.

En el gráfico 08 del análisis efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de treinta minutos, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por dos minutos de exposición nos muestra que existe efecto en la disminución de la curva de crecimiento teniendo 0.00419 de menor efectividad en relación al Isodine.

**Gráfico 9: Efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por seis minutos**



Fuente: Procesamiento en SPSS de la base de datos de la aplicación del instrumento.

En el gráfico 09 del análisis efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de treinta minutos, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por seis minutos, nos indica que existe un elevado efecto en la disminución de la curva de crecimiento, no ocurriendo lo mismo con el Isodine que permite el crecimiento del microorganismo.

## **5.2. Análisis inferencial y/o contrastación de hipótesis**

Para el análisis inferencial o contrastación de hipótesis de la investigación, se realizó en primer lugar la prueba de normalidad, mediante la cual se nos evidencio con cuadros, histogramas, graficas de densidad y con graficas Q-Q plot, para la presentación de la medianas y medias y a su vez dar respuesta a la hipótesis que se ha aceptado. Así también nos permite el tratamiento del análisis de datos que se tomó en cuenta para las hipótesis específicas.

Para la obtención de resultados inferenciales partiremos de (T0) Tiempo cero de crecimiento *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212

### **Resultados inferenciales**

Para realizar la prueba de normalidad, nos plantearemos dos hipótesis:

- H1. La distribución de los datos respecto a T0, T1, T2 y T3 tiene una distribución normal.
- H2. La distribución de los datos respecto a T0, T1, T2 y T3 no tiene una distribución normal.

**Tabla 01: La distribución de los datos respecto a T0, T1, T2 y T3**

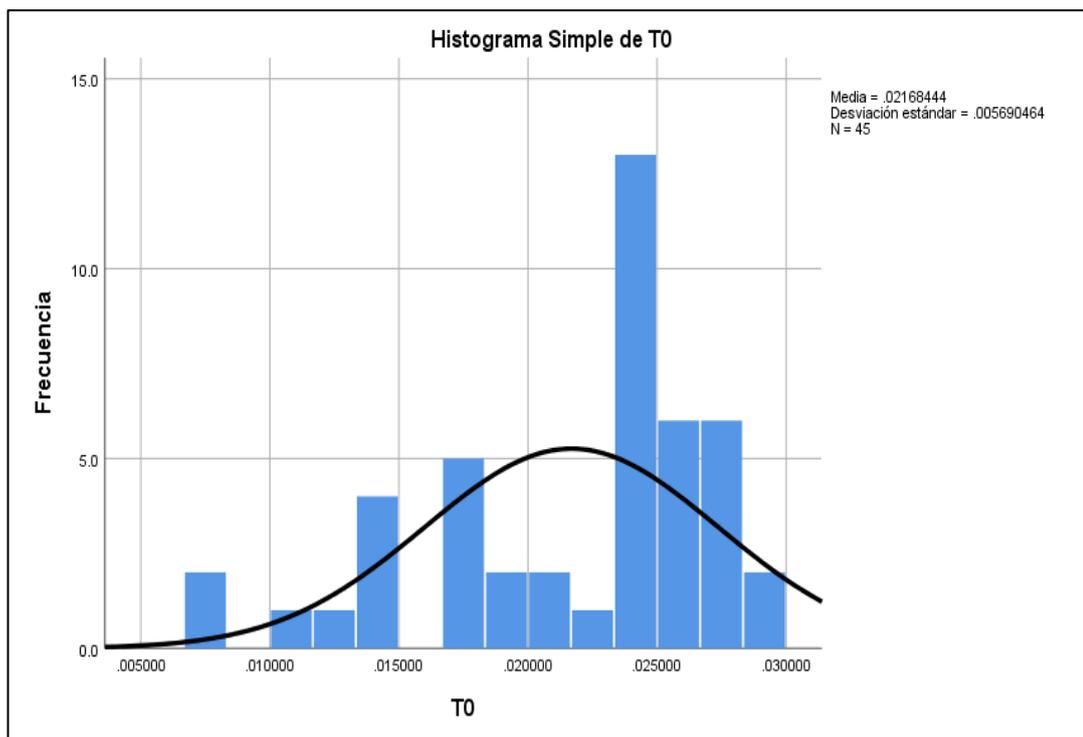
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	Gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
T0	.225	45	.000	.892	45	.001
T1 = 2 min	.127	45	.066	.950	45	.051
T2 = 4 min	.090	45	.200*	.950	45	.052
T3 = 6 min	.178	45	.001	.888	45	.000

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

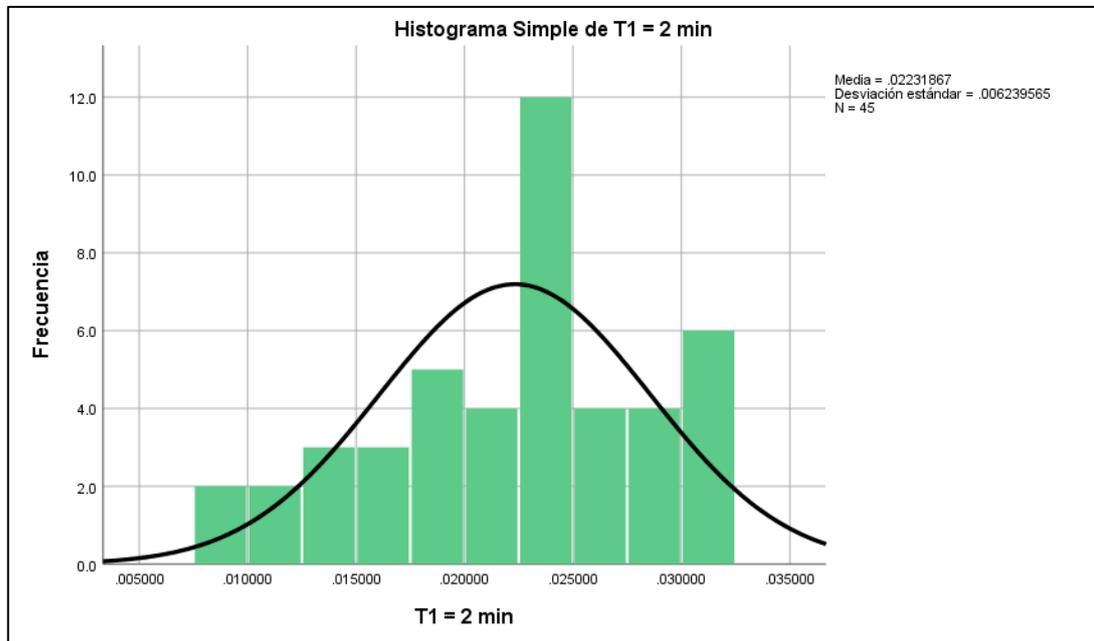
Fuente: Procesamiento en SPSS de la base de datos de la aplicación del instrumento.

Para la prueba de normalidad, se tomó en cuenta la prueba de Shapiro-Wilk, en vista que la muestra es igual a 45. El resultado de la significación muestra una cifra de 0.001 en la variable T0 y T3, valor que está por debajo de 0.05, razón por la cual concluimos que la distribución de los datos no es normal. Por lo tanto, se rechaza la hipótesis alterna (H1). Para las variables T1 y T2 valor que está por encima de 0.05, razón por la cual concluimos que la distribución de los datos es normal. Por lo tanto, se acepta la hipótesis alterna (H1). Se concluye que, por lo que las variables T0 Y T3 no siguen una distribución normal se aplicarán pruebas estadísticas no paramétricas para el análisis estadístico.

**Gráfico 10: Histograma con curva T0**

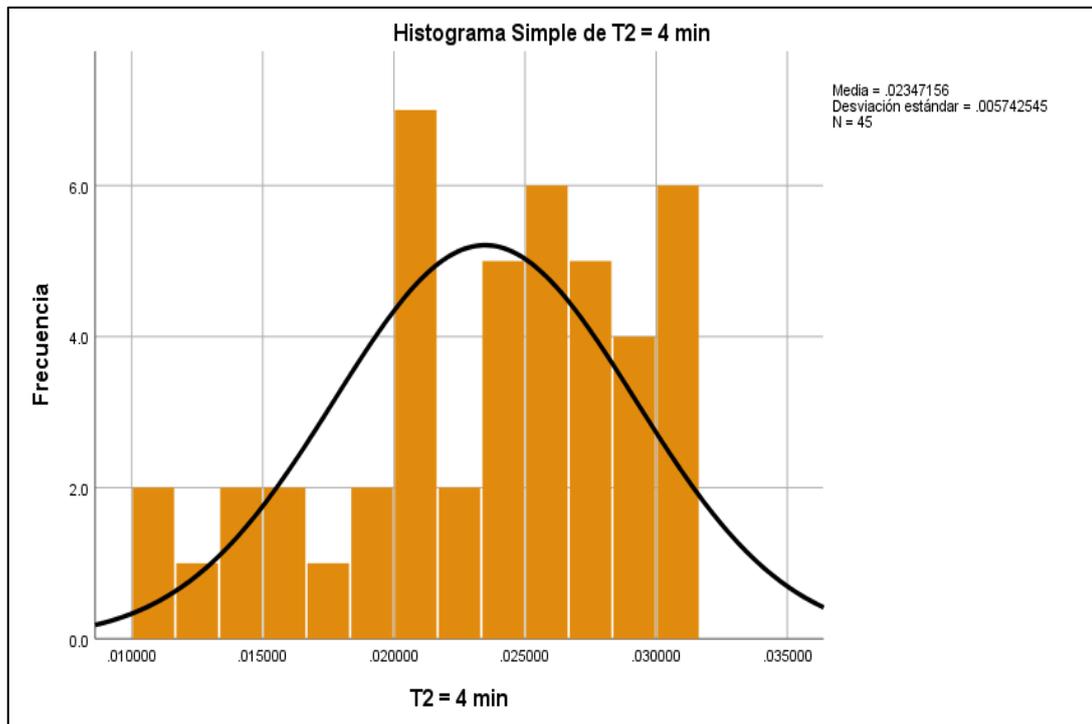
Fuente: Procesamiento en SPSS de la base de datos de la aplicación del instrumento.

El gráfico 10 de histograma muestra la distribución de los datos T0 los mismos datos no siguen una distribución normal. Lo cual nos indica que los datos no siguen una distribución normal en su conjunto.

**Gráfico 11: Histograma con curva T1**

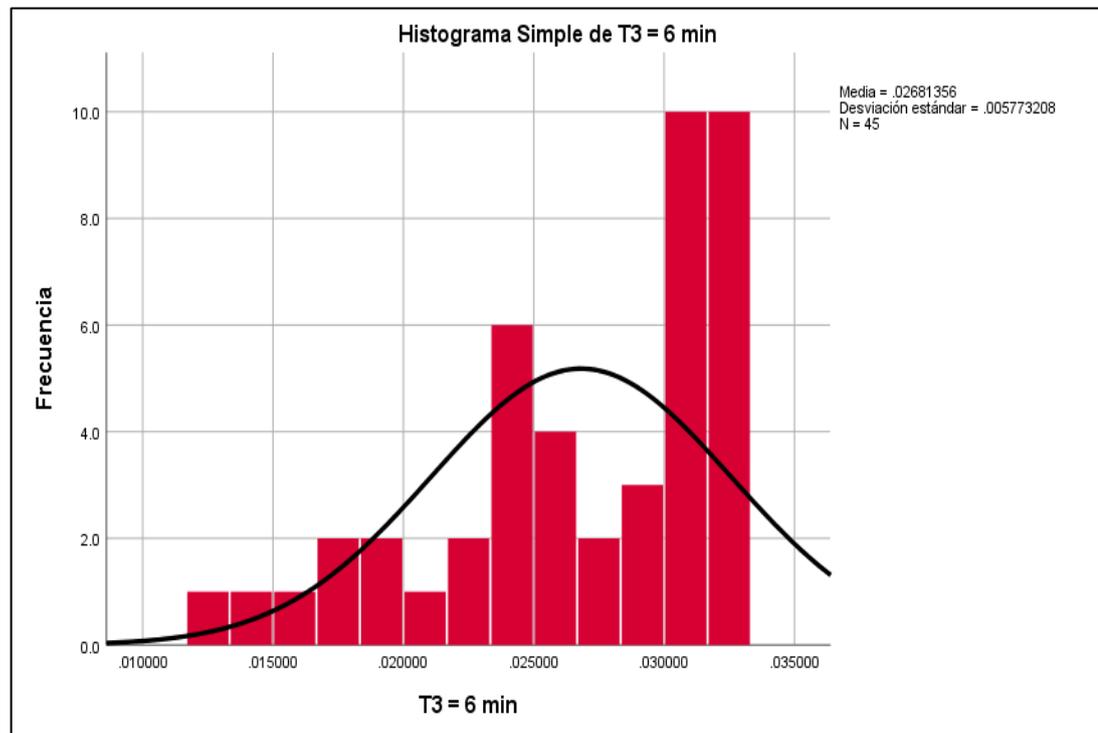
Fuente: Procesamiento en SPSS de la base de datos de la aplicación del instrumento.

El gráfico 11 de histograma muestra la distribución de los datos T1 con curva normal donde los datos T1 se asemeja a una distribución normal. Lo cual nos indica que los datos no siguen una distribución normal en su conjunto.

**Gráfico 12: Histograma con curva T2**

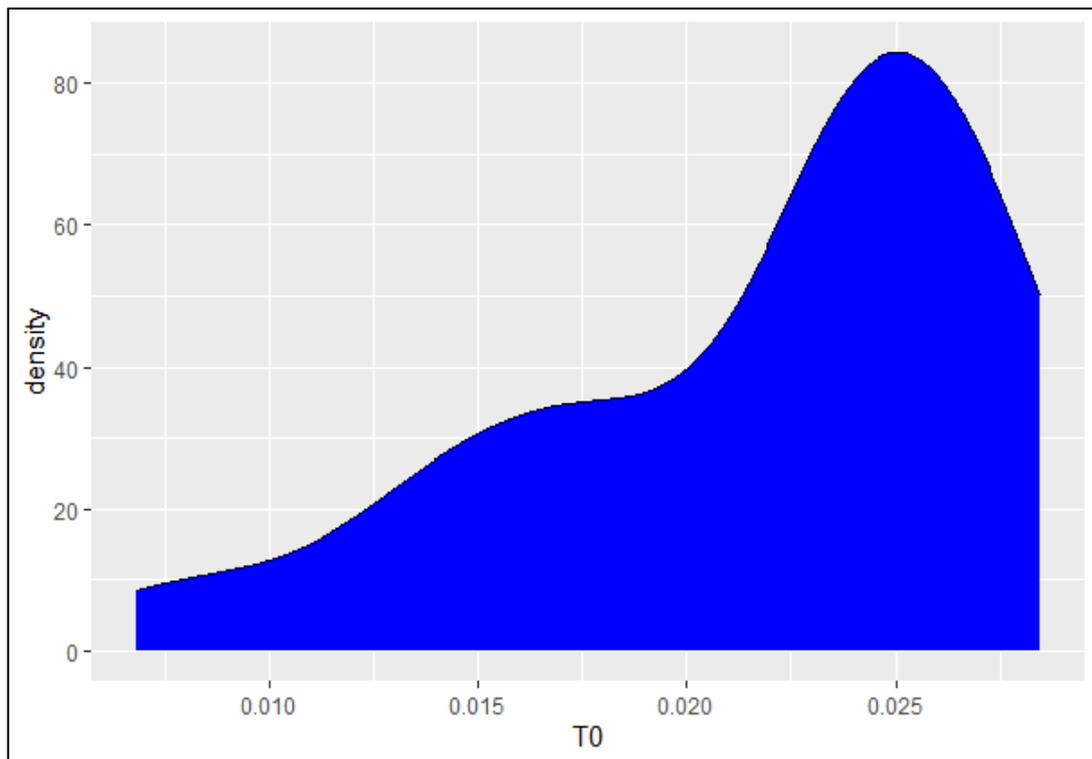
Fuente: Procesamiento en SPSS de la base de datos de la aplicación del instrumento.

El gráfico 12 de histograma muestra la distribución de los datos T2 con curva normal donde los datos T2 se asemeja a una distribución normal. Lo cual nos indica que los datos no siguen una distribución normal en su conjunto.

**Gráfico 13: Histograma con curva T3**

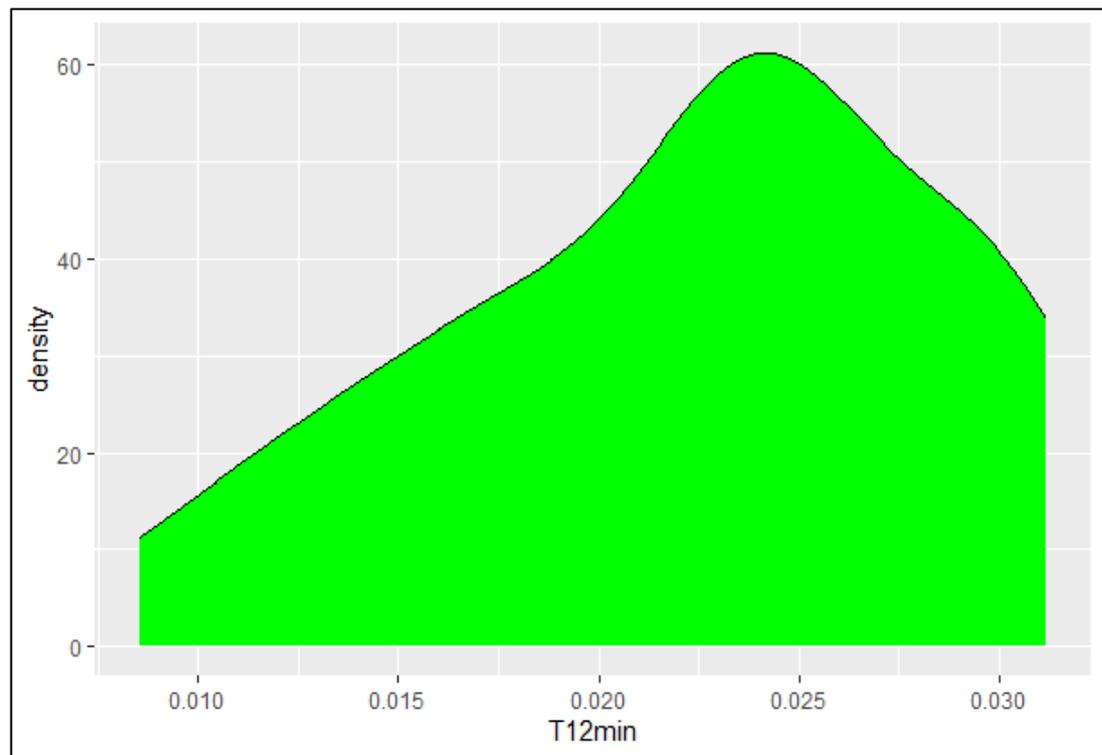
Fuente: Procesamiento en SPSS de la base de datos de la aplicación del instrumento.

El gráfico 13 de histograma muestra la distribución de los datos T3 con curva no normal donde los datos no siguen una distribución normal. Lo cual nos indica que los datos no siguen una distribución normal en su conjunto.

**Gráfica 14: Densidad de T0**

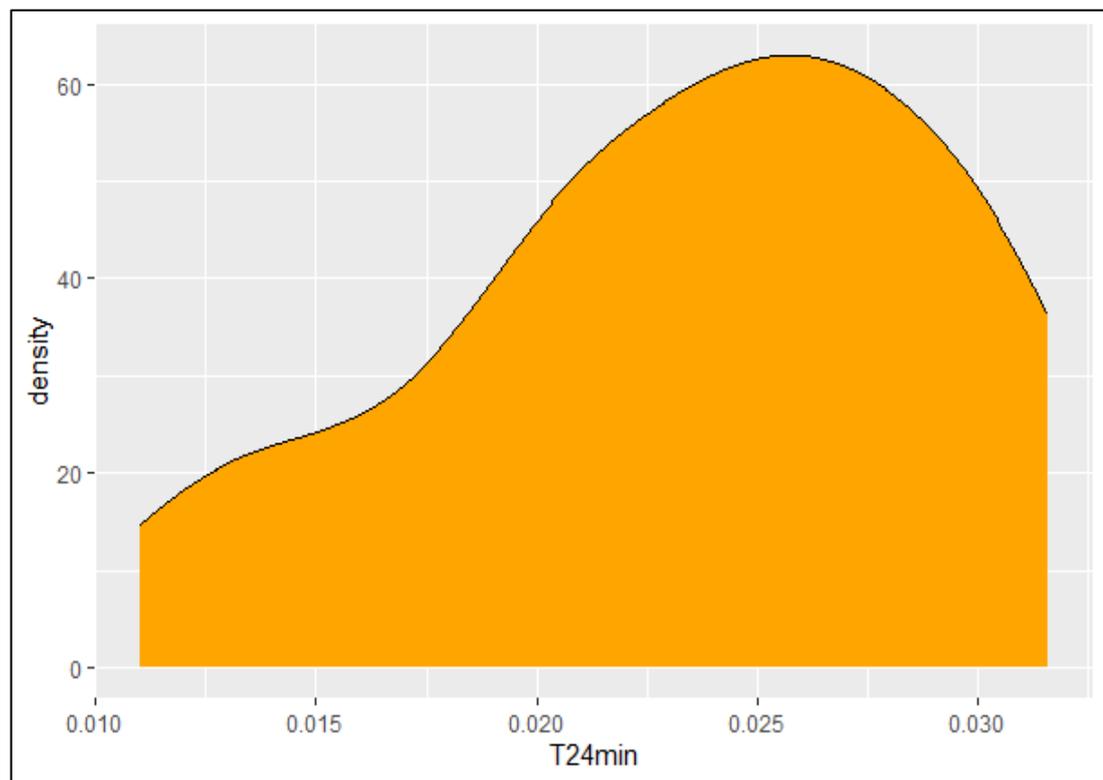
Fuente: Procesamiento en SPSS de la base de datos de la aplicación del instrumento.

El gráfico 14 de densidad T0 muestra la concentración de los datos según sus puntajes de T0 donde, la mayor densidad de los datos presenta concentraciones variables entre los puntajes. Lo cual nos indica que los datos no siguen una distribución normal en su conjunto.

**Gráfica 13: Densidad T1**

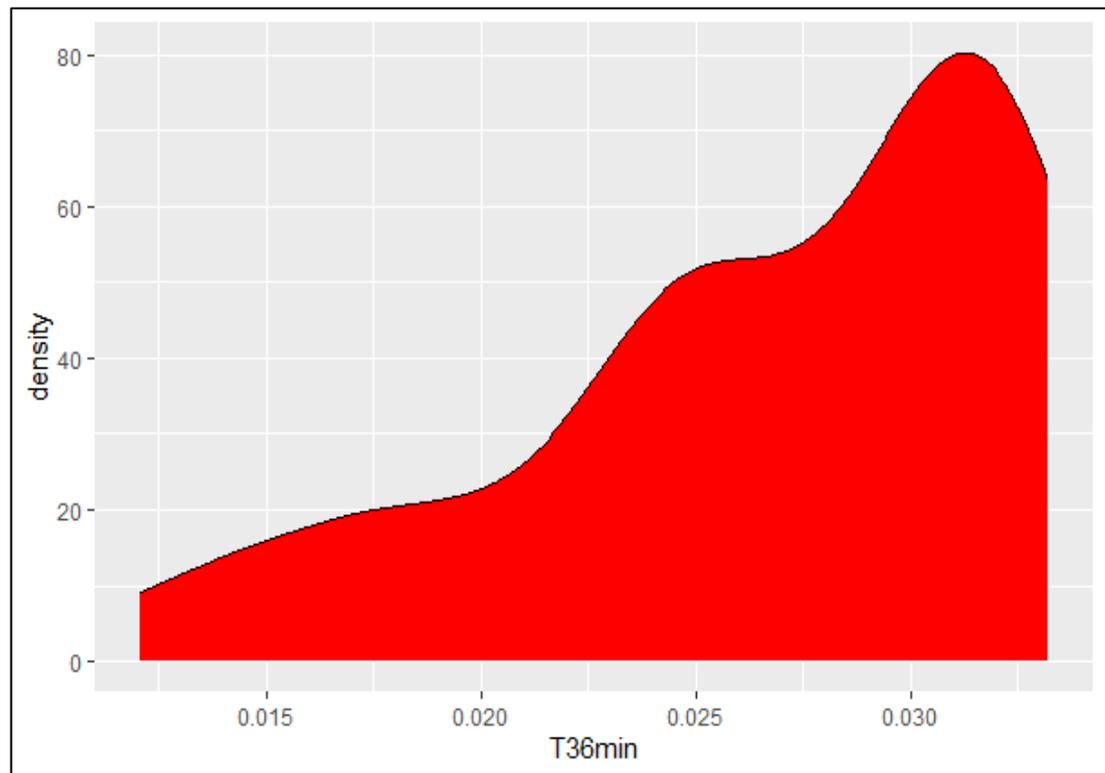
Fuente: Procesamiento en SPSS de la base de datos de la aplicación del instrumento.

El gráfico 13 de densidad T1 muestra la concentración de los datos según sus puntajes donde, la mayor densidad de los datos presenta concentraciones no variables entre los puntajes este se asemejan a una distribución normal. Lo cual nos indica que los datos no siguen una distribución normal en su conjunto.

**Gráfica 14: Densidad T2**

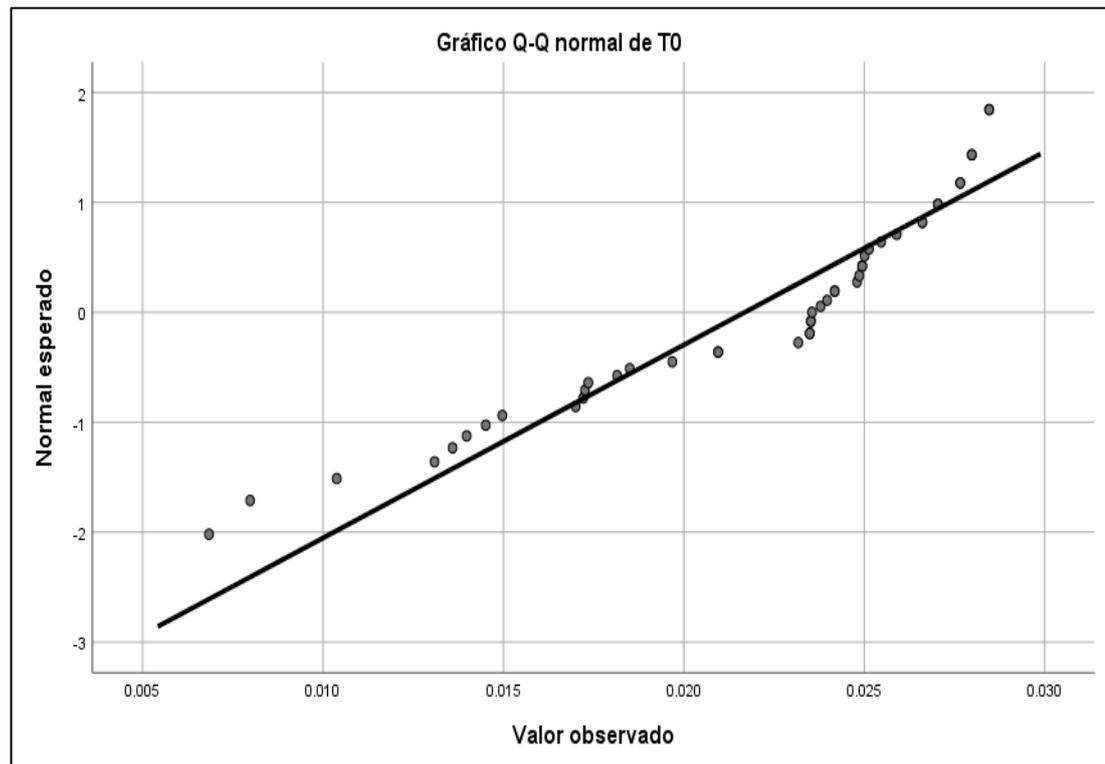
Fuente: Procesamiento en SPSS de la base de datos de la aplicación del instrumento.

El gráfico 14 de densidad T2 muestra la concentración de los datos según sus puntajes donde, la mayor densidad de los datos presenta concentraciones no variables entre los puntajes este se asemejan a una distribución normal. Lo cual nos indica que los datos no siguen una distribución normal en su conjunto.

**Gráfica 15: Densidad T3**

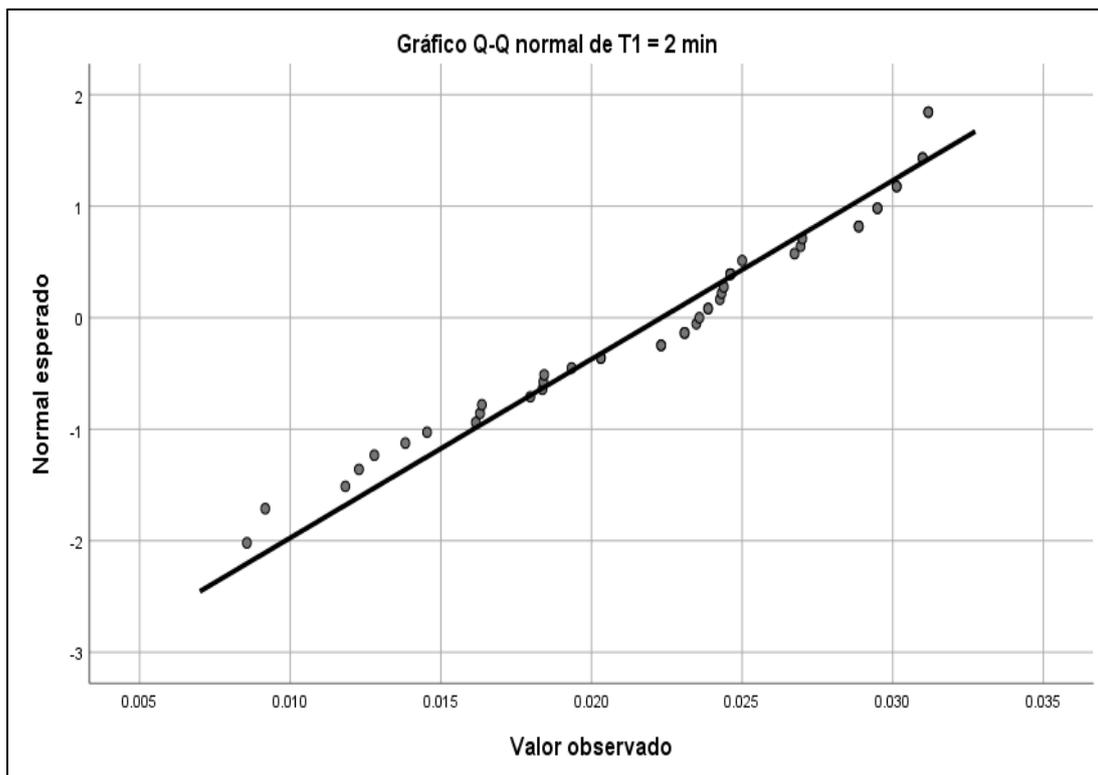
Fuente: Procesamiento en SPSS de la base de datos de la aplicación del instrumento.

El gráfico 15 de densidad T3 muestra la concentración de los datos según sus puntajes de T3 donde, la mayor densidad de los datos presenta concentraciones variables entre los puntajes. Lo cual nos indica que los datos no siguen una distribución normal en su conjunto.

**Gráfica 16: Q-Q plot T0**

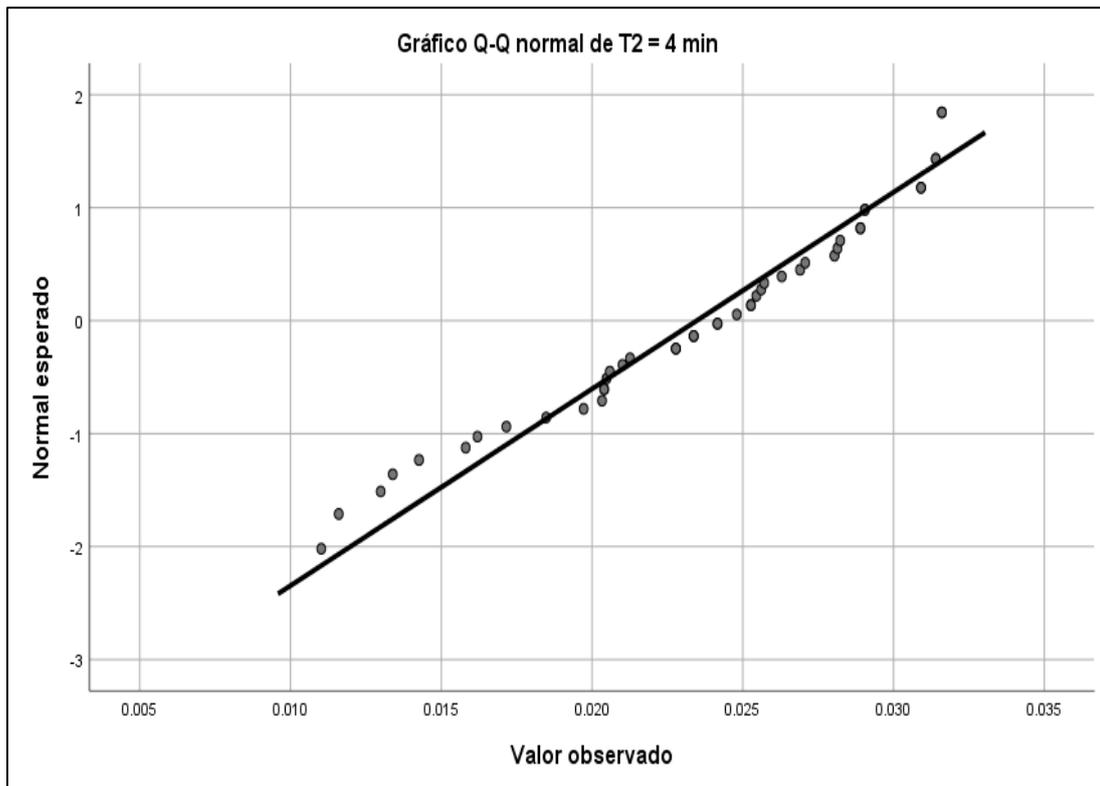
Fuente: Procesamiento en SPSS de la base de datos de la aplicación del instrumento.

El gráfico 16 de la normal del Q-Q plot de lo datos de T0 muestra la comparación de los cuantiles al comparar los cuantiles de una muestra teórica en relación a los cuantiles de los datos obtenidos T0 para saber si siguen una distribución normal. Podemos observar que los puntos de los datos cerca de las colas no caen al largo de la línea recta (media) de T0 teniendo una forma de una “s” alargada con cola pesada hacia la derecha, lo cual la mayoría de los datos se alejan respecto a la media, lo que indica que los datos no siguen una distribución normal.

**Gráfica 17: Q-Q plot T1**

Fuente: Procesamiento en SPSS de la base de datos de la aplicación del instrumento.

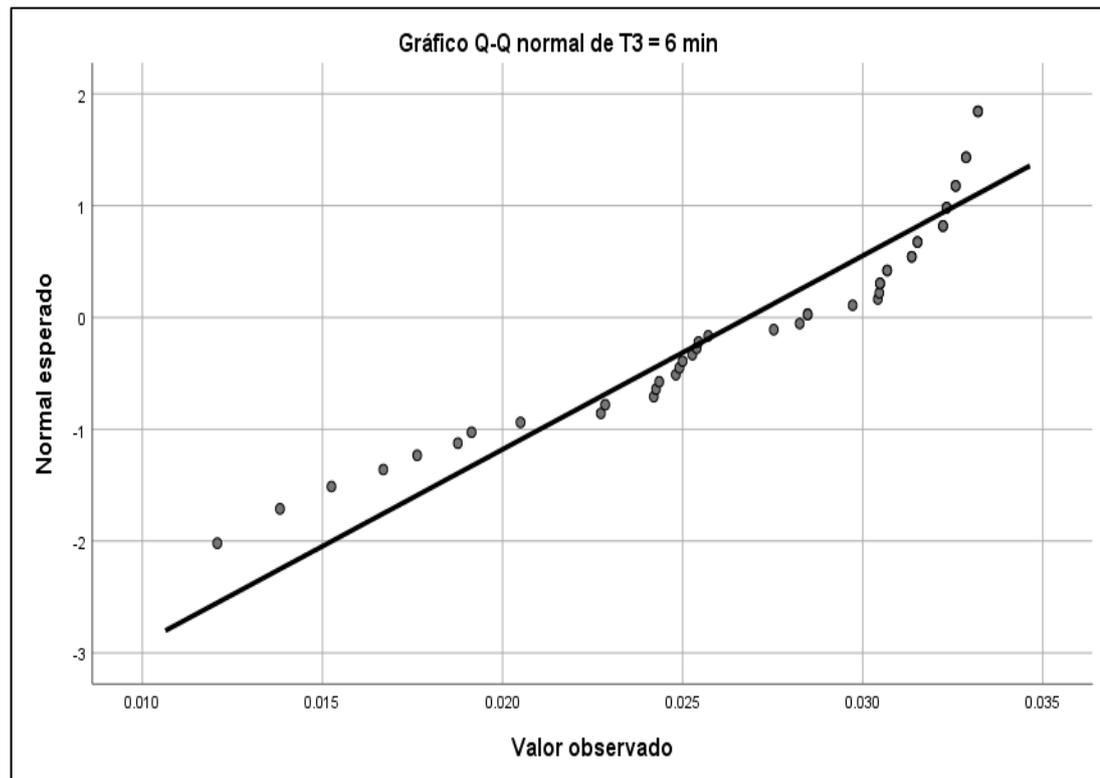
El gráfico 17 de la normal del Q-Q plot de lo datos de T1 muestra la comparación de los cuantiles de una muestra teórica en relación a los cuantiles de los datos obtenidos T1 para saber si siguen una distribución normal. Podemos observar que los puntos de los datos cerca de las colas no caen a lo largo de la línea recta (media) de T1 no presenta una forma de una “s” alargada, se observa que los puntos de los datos están cerca de la línea recta (media); teniendo una distribución normal.

**Gráfica 18: Q-Q plot T2**

Fuente: Procesamiento en SPSS de la base de datos de la aplicación del instrumento.

El gráfico 18 de la normal del Q-Q plot de lo datos de T2 muestra la comparación de los cuantiles al comparar los cuantiles de una muestra teórica en relación a los cuantiles de los datos obtenidos T2 para saber si siguen una distribución normal. Podemos observar que los puntos de los datos cerca de las colas no caen al largo de la línea recta (media) de T2 no presenta una forma de una “s” alargada, se observa que los puntos de los datos están cerca de la línea recta (media); teniendo una distribución normal.

**Gráfica 19: Q-Q plot T3**



Fuente: Procesamiento en SPSS de la base de datos de la aplicación del instrumento.

El gráfico 19 de la normal del Q-Q plot de lo datos de T3 muestra la comparación de los cuantiles al comparar los cuantiles de una muestra teórica en relación a los cuantiles de los datos obtenidos T3 para saber si siguen una distribución normal. Podemos observar que los puntos de los datos cerca de las colas no caen al largo de la línea recta (media) de T3 teniendo una forma de una “s” alargada con cola pesada hacia la derecha, lo cual la mayoría de los datos se alejan respecto a la media, lo que indica que los datos no siguen una distribución normal.

### Prueba de hipótesis específica 1

- $H_i$ : El agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por dos minutos
- $H_o$ : El agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto no tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por dos minutos

**TABLA 02: Datos del efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por dos minutos**

		T1 = 2 min						
		Recuento	Mínimo	Máximo	Mediana	Media	Desviación estándar	Varianza
muestra	Enterococcus Faecalis	5	0.01797	0.01934	0.0184	0.018502	0.000505	0
	Isodine	5	0.01183	0.01636	0.01382	0.01422	0.002051	0.000004
	Agua bidestilada ozonizada	5	0.00856	0.01616	0.01228	0.012142	0.003301	0.000011

H de Kruskal-Wallis:9.980, gl:2 p=0.007

#### Interpretación

El criterio de aceptación de la hipótesis nos dice que, se acepta la hipótesis de la investigación si el valor p es menor que 0.05, el H de Kruskal-Wallis nos muestra que el valor de p es 0.007; de este modo se acepta la hipótesis de investigación.

#### Conclusión

Se afirma que el agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por dos minutos.

## Prueba de hipótesis específica 2

- $H_1$ : El agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos
- $H_0$ : El agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto no tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos

**TABLA 03: Datos del efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos**

		T1 = 4 min						
		Recuento	Mínimo	Máximo	Mediana	Media	Desviación estándar	Varianza
muestra	Enterococcus Faecalis	5	0.02033	0.02126	0.02059	0.020734	0.000388	0
	Isodine	5	0.01102	0.01716	0.01426	0.014406	0.002415	0.000006
	Agua bidestilada ozonizada	5	0.0116	0.01972	0.01581	0.01572	0.003466	0.000012

H de Kruskal-Wallis:9.500, gl:2 p=0.009

### Interpretación

El criterio de aceptación de la hipótesis nos dice que, se acepta la hipótesis de la investigación si el valor p es menor que 0.05, el H de Kruskal-Wallis nos muestra que el valor de p es 0.009; de este modo se acepta la hipótesis de investigación.

### Conclusión

Se afirma que el agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos.

### Prueba de hipótesis específica 3

- $H_1$ : El agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por seis minutos
- $H_0$ : El agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto no tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por seis minutos

**TABLA 04: Datos del efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por seis minutos**

		T1 = 6 min						
		Recuento	Mínimo	Máximo	Mediana	Media	Desviación estándar	Varianza
muestra	Enterococcus Faecalis	5	0.02481	0.02544	0.025	0.02511	0.000287	0
	Isodine	5	0.01208	0.01876	0.01525	0.01532	0.002572	0.000007
	Agua bidestilada	5	0.01763	0.02571	0.02285	0.021918	0.003422	0.000012
	Agua ozonizada	5	0.01763	0.02571	0.02285	0.021918	0.003422	0.000012

H de Kruskal-Wallis:9.920, gl:2 p=0.007

#### Interpretación

El criterio de aceptación de la hipótesis nos dice que, se acepta la hipótesis de la investigación si el valor p es menor que 0.05, el H de Kruskal-Wallis nos muestra que el valor de p es 0.007; de este modo se acepta la hipótesis de investigación.

#### Conclusión

Se afirma que el agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por seis minutos.

### Prueba de hipótesis específica 4

- $H_i$ : El agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minutos tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por dos minutos
- $H_o$ : El agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minutos no tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por dos minutos

**TABLA 05: Datos del efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minutos, en la inhibición in vitro del crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por dos minutos**

		T1 = 2 min						
		Recuento	Mínimo	Máximo	Mediana	Media	Desviación estándar	Varianza
muestra	Enterococcus Faecalis	5	0.02887	0.03118	0.03013	0.030132	0.00098	0.000001
	Isodine	5	0.02031	0.02461	0.02309	0.022838	0.001654	0.000003
	Agua bidestilada	5	0.02348	0.025	0.02439	0.02436	0.000559	0
	Agua ozonizada	5	0.02348	0.025	0.02439	0.02436	0.000559	0

H de Kruskal-Wallis:10.674, gl:2 p=0.005

#### Interpretación

El criterio de aceptación de la hipótesis nos dice que, se acepta la hipótesis de la investigación si el valor p es menor que 0.05, el H de Kruskal-Wallis nos muestra que el valor de p es 0.005; de este modo se acepta la hipótesis de investigación.

#### Conclusión

Se afirma que el agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minutos tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por dos minutos.

### Prueba de hipótesis específica 5

- $H_i$ : El agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minutos tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos
- $H_o$ : El agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minutos no tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos

**TABLA 06: Datos del efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minutos, en la inhibición in vitro del crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos**

		T1 = 4 min						
		Recuento	Mínimo	Máximo	Mediana	Media	Desviación estándar	Varianza
muestra	Enterococcus Faecalis	5	0.0289	0.0316	0.03091	0.030372	0.001301	0.000002
	Isodine	5	0.0204	0.02527	0.02337	0.023196	0.00182	0.000003
	Agua bidestilada ozonizada	5	0.0248	0.0269	0.02571	0.025862	0.000787	0.000001

H de Kruskal-Wallis:12.20, gl:2 p=0.002

#### Interpretación

El criterio de aceptación de la hipótesis nos dice que, se acepta la hipótesis de la investigación si el valor p es menor que 0.05, el H de Kruskal-Wallis nos muestra que el valor de p es 0.002; de este modo se acepta la hipótesis de investigación.

#### Conclusión

Se afirma que el agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minutos tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos.

### Prueba de hipótesis específica 6

- $H_1$ : El agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minutos tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por seis minutos
- $H_0$ : El agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minutos no tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por seis minutos

**TABLA 07: Datos del efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minutos, en la inhibición in vitro del crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por seis minutos**

		T1 = 6 min						
		Recuento	Mínimo	Máximo	Mediana	Media	Desviación estándar	Varianza
muestra	Enterococcus Faecalis	5	0.02847	0.03287	0.03152	0.031224	0.001769	0.000003
	Isodine	5	0.03048	0.0332	0.03223	0.03192	0.001036	0.000001
	Agua bidestilada ozonizada	5	0.0205	0.02527	0.0242	0.02341	0.001864	0.000003

H de Kruskal-Wallis:9.420, gl:2 p=0.009

#### Interpretación

El criterio de aceptación de la hipótesis nos dice que, se acepta la hipótesis de la investigación si el valor p es menor que 0.05, el H de Kruskal-Wallis nos muestra que el valor de p es 0.009; de este modo se acepta la hipótesis de investigación.

#### Conclusión

Se afirma que el agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minutos tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por seis minutos.

### Prueba de hipótesis específica 7

- $H_i$ : El agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minutos tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por dos minutos
- $H_o$ : El agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minutos no tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por dos minutos

**TABLA 08: Datos del efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minutos, en la inhibición in vitro del crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por dos minutos**

		T1 = 2 min						
		Recuento	Mínimo	Máximo	Mediana	Media	Desviación estándar	Varianza
muestra	Enterococcus Faecalis	5	0.02887	0.03118	0.03013	0.030132	0.00098	0.000001
	Isodine	5	0.02031	0.02461	0.02309	0.022838	0.001654	0.000003
	Agua bidestilada ozonizada	5	0.02358	0.027	0.02674	0.025704	0.001649	0.000003

H de Kruskal-Wallis: 11.180, gl: 2  $p=0.004$

#### Interpretación

El criterio de aceptación de la hipótesis nos dice que, se acepta la hipótesis de la investigación si el valor  $p$  es menor que 0.05, el H de Kruskal-Wallis nos muestra que el valor de  $p$  es 0.004; de este modo se acepta la hipótesis de investigación.

#### Conclusión

Se afirma que el agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minutos tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por dos minutos.

### Prueba de hipótesis específica 8

- Hi: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minutos tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos
- Ho: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minutos no tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos

**TABLA 09: Datos del efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minutos, en la inhibición in vitro del crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos**

		T1 = 4 min						
		Recuento	Mínimo	Máximo	Mediana	Media	Desviación estándar	Varianza
muestra	Enterococcus Faecalis	5	0.0289	0.0316	0.03091	0.030372	0.001301	0.000002
	Isodine	5	0.0204	0.02527	0.02337	0.023196	0.00182	0.000003
	Agua bidestilada	5	0.02545	0.02823	0.02804	0.027386	0.001179	0.000001
	Agua ozonizada	5	0.02545	0.02823	0.02804	0.027386	0.001179	0.000001

H de Kruskal-Wallis:12.500, gl:2 p=0.002

#### Interpretación

El criterio de aceptación de la hipótesis nos dice que, se acepta la hipótesis de la investigación si el valor p es menor que 0.05, el H de Kruskal-Wallis nos muestra que el valor de p es 0.002; de este modo se acepta la hipótesis de investigación.

#### Conclusión

Se afirma que el agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minutos tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos.

### Prueba de hipótesis específica 9

- $H_i$ : El agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minutos tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por seis minutos
- $H_o$ : El agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minutos no tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por seis minutos

**TABLA 10: Datos del efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minutos, en la inhibición in vitro del crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por seis minutos**

		T1 = 6 min						
		Recuento	Mínimo	Máximo	Mediana	Media	Desviación estándar	Varianza
muestra	Enterococcus Faecalis	5	0.02847	0.03287	0.03152	0.031224	0.001769	0.000003
	Isodine	5	0.03048	0.0332	0.03223	0.03192	0.001036	0.000001
	Agua bidestilada ozonizada	5	0.02753	0.03046	0.02972	0.029276	0.001324	0.000002

H de Kruskal-Wallis:7.740, gl:2 p=0.024

#### Interpretación

El criterio de aceptación de la hipótesis nos dice que, se acepta la hipótesis de la investigación si el valor p es menor que 0.05, el H de Kruskal-Wallis nos muestra que el valor de p es 0.024; de este modo se acepta la hipótesis de investigación.

#### Conclusión

Se afirma que el agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minutos tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 aplicada por seis minutos.

### 5.3. Discusión de resultados

El *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 es una bacteria Gram-positiva anaerobia facultativa que tiene la capacidad de adecuarse y prosperar en ambientes con escenarios adversos de baja alimentación y baja concentración de oxígeno, como ocurre en los conductos dentarios, por lo que es capaz de expresar genes que ayudan a su supervivencia bajo estas condiciones. También tiene muchos factores de virulencia como citolisinas, sinergistas (que se unen a las células), quimioatrayentes como feromonas, ácido lipóico que estimula la producción de citoquinas y enzimas líticas como proteasas y hialuronidasa. La literatura describe ampliamente la resistencia de esta bacteria a los diversos agentes bactericidas usados 24

Todas estas características, junto con la complicada anatomía de los conductos que obstaculizan el acceso a los materiales de irrigación y otros medicamentos, hacen de este patógeno una de las principales causas de fracaso endodóntico y perseverancia en la infección periapical.

En los últimos años, el ozono (ya sea en estado líquido como gaseoso) ha comenzado a usarse como desinfectante del conducto radicular, así como complemento de los dispositivos mecánicos, lo que describe datos contradictorios sobre su capacidad para matar bacterias. Esta divergencia de resultados posiblemente exista debida a la gran diversidad de concentraciones de ozono usadas y de equipos generadores.

Analizando los resultados del efecto antibacteriano del agua bidestilada ozonizada en la curva de crecimiento *Enterococcus Faecalis*, podemos afirmar que; a concentración de 1 minuto, en la inhibición in vitro por dos minutos de exposición, si existe mayor efecto que el grupo control (Isodine) al igual que a la concentración de 15 minutos, en la inhibición in vitro por seis minutos de exposición también existe mayor efecto que el grupo control (Isodine) y por ultimo a concentración de 30 minutos, en la inhibición in vitro por seis minutos también tuvo mayor efecto que el grupo control (Isodine).

Coincidiendo con el estudio realizado por Lüdi Etchevarren (2015) en el que se concluyó que, el ozono en gas a una concentración de 20 µg/mL durante 1 minuto, observando una efectividad del 99,9% cuando se aplicaba directamente sobre las biopelículas de *Enterococcus Faecalis*. Este resultado confirma que la utilización de ozono gas a las concentraciones recomendadas, es tan eficaz como concentraciones mayores utilizadas

por otros autores. El efecto del ozono fue similar al observado con el tratamiento NaOCl al 5,25%, cabe recalcar que en este estudio el ozono utilizado es en estado gaseoso directo siendo marcado el efecto del mismo sobre el microorganismo mientras que en nuestro estudio se buscó dicho efecto del gas actuando en el agua bidestilada.

Pinheiro S et al., en su estudio “Eficacia antimicrobiana de hipoclorito de sodio al 2.5%, clorhexidina al 2% y agua ozonizada como irrigantes en los conductos radiculares mesiovestibulares con curvatura severa de los molares mandibulares” comparó los recuentos bacterianos obtenidos antes y después de la instrumentación del conducto radicular y todos los grupos mostraron una reducción significativa del biofilm después del riego ( $P < 0,01$ ). Se comparó la reducción del biofilm después de la instrumentación entre los grupos e hipoclorito de sodio al 2,5 % (2,88 log<sub>10</sub> CFU/mL, 98,07 %) y agua ozonizada (2,79 log<sub>10</sub> CFU/mL, 98,02 %) coincidiendo con nuestro estudio en su alto potencial y efecto de oxidación, que provoca la destrucción de la pared celular bacteriana y de la membrana plasmática, el ozono actúa sobre glicoproteínas, glicolípidos y aminoácidos e inhibe el sistema de control enzimático celular. Como resultado, aumenta la permeabilidad de la membrana, lo que permite que las moléculas de ozono entren fácilmente en las células y provoquen la lisis microbiana. Del mismo modo se coincide en afirmar que es un material biocompatible capaz de ser usado en diferentes procedimientos por su baja toxicidad.

Carhuayo M. et al.; (2017) compara la eficacia del ozono y el hipoclorito de sodio y llegando a la conclusión que el ozono no produce in vitro ninguna eficacia frente al *Enterococcus Faecalis* al obtener un promedio de unidades formadoras de colonia de 3.49 UFC x 10 a las 24 y 48 horas discrepando con nuestro estudio ya que nosotros encontramos que hay una efectividad de ambos compuestos y que a mayor tiempo de exposición del ozono sobre el microorganismo hay mayor efectividad, sucediendo lo contrario con el hipoclorito de sodio, a mayor tiempo de exposición disminuye su efectividad.

Salmero P. et al., (2017) España-Murcia, resalta al ozono como el grupo de tratamiento con el menor número de CFU / ml fue el ozono, con el mismo valor que el grupo de PDT algo por debajo que el 2,5% de NaOCL que tiene el porcentaje más bajo de área contaminada, coincidiendo con nuestro estudio en el que se remarca la acción de los dos agentes como (ozono y NaCL) como inhibidores de la curva de crecimiento del

*Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 alternándose dicha efectividad según concentración y exposición del ozono.

Benalcazar M. et al., 2015 Quito, comparó el efecto del lavado con hidróxido de calcio, aceite tratado con ozono, clorhexidina al 2%, lavado convencional y lavado con hipoclorito de sodio al 5,25% sobre *Enterococcus Faecalis* en presencia de la dentina. Siendo la eficacia del ozono y el hipoclorito de sodio relativamente positiva, pero por debajo de las otras alternativas presentes en el estudio, no coincidimos ya que en nuestro estudio si se encontró la efectividad de ambos viricidas en la curva de crecimiento del microorganismo objeto de nuestro ensayo.

Marcavillaca A. et al., 2018, concluye que, la actividad antibacteriana de la endozona relacionada al *Enterococcus Faecalis* fue del 92%, la actividad antibacteriana del endozona utilizada con ultrasonido durante 10 segundos fue del 94,63%, usada en 20 segundos fue del 95,01% y la aplicación media de 30 segundos fue del 96,74%. Dado que el efecto antibacteriano es consistente con el tiempo de aplicación, el análisis estadístico de kruskal wallis mostró una diferencia significativa entre los diferentes tiempos de aplicación, coincidimos sobre todo en esta última parte ya que en nuestro estudio pudimos observar a mayor tiempo de concentración del agua bidestilada y mayor exposición sobre el microorganismo hay mayor eficacia.

#### Aporte científico de la investigación

La eliminación de bacterias durante el tratamiento del conducto radicular es un factor crítico de éxito en la endodoncia, ya que los estudios han demostrado que muchos cambios pulpares y periapicales están asociados con la presencia de microorganismos en el sistema del conducto radicular

Hace algunos años, *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 se mencionaba a menudo en los dientes enfermos tratados y se descubrió allí. La presencia significativa de *Enterococcus Faecalis* en dientes obturados con enfermedad periodontal lo ha llamado la atención como una etiología de la enfermedad posterior al tratamiento.

Las soluciones usadas como irrigantes endodónticos deben tener una actividad antimicrobiana de amplio espectro y ser relativamente no tóxicos para los tejidos

periapicales y la mucosa oral, lo que enfatiza la importancia de usar enjuagues antimicrobianos durante las preparaciones quimiomecánicas.

El ozono es rico en oxígeno, consta de tres átomos de oxígeno, es inestable, se descompone fácilmente en oxígeno normal y oxígeno nascente, y es un oxidante fuerte. Esta propiedad lo hace muy efectivo como desinfectante y lo convierte en el competidor más fuerte del cloro.

El ozono se considera el desinfectante más efectivo y requiere un tiempo de contacto relativamente corto. Se ha demostrado que cuando el ozono se transfiere al agua a través de un mezclador estático en línea permite que el efecto oxidante del ozono actúe sobre los microorganismos eliminándolos, actuando sobre la membrana plasmática y permitiendo que se produzca una lisis por dispersión del citoplasma.

Este estudio es clínicamente relevante ya que contribuirá al desarrollo del conocimiento científico al evaluar el efecto del agua bidestilada sobre el *Enterococcus Faecalis*, lo que más adelante pueda desarrollarse como un irrigante endodóntico, para uso clínico contra bacterias resistentes en conductos radiculares así como su presencia en otras patologías antes mencionadas, produciendo un irrigante de baja concentración de citotoxicidad para el organismo ya que la literatura afirma la biocompatibilidad del agua ozonizada.

## CONCLUSIONES

1. El agua bidestilada ozonizada a concentración de un minuto con exposición de dos minutos tiene efecto en la disminución en la curva de crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212, también existe un mayor efecto del ozono en relación al Isodine.
2. El agua bidestilada ozonizada a concentración de un minuto con exposición de cuatro minutos tiene efecto en la disminución en la curva de crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212, existiendo un menor efecto del ozono en relación al Isodine.
3. El agua bidestilada ozonizada a concentración de un minuto con exposición de seis minutos tiene efecto en la disminución en la curva de crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212, existiendo un marcado menor efecto del ozono en relación al Isodine.
4. El agua bidestilada ozonizada a concentración de quince minutos con exposición de dos minutos tiene efecto en la disminución en la curva de crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212, también que existe mínimamente un menor efecto del ozono en relación al Isodine.
5. El agua bidestilada ozonizada a concentración de quince minutos con exposición de cuatro minutos tiene efecto en la disminución en la curva de crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212, también que existe un menor efecto del ozono en relación al Isodine.
6. El agua bidestilada ozonizada a concentración de quince minutos con exposición de seis minutos tiene elevado efecto en la disminución en la curva de crecimiento del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212, también podemos afirmar que el efecto del Isodine es mínimo permitiendo el crecimiento del microorganismo, concluimos que, a mayor tiempo de exposición del ozono sobre el microorganismo mayor efecto sobre la inhibición de la curva de crecimiento.
7. El agua bidestilada ozonizada a concentración de treinta minutos con exposición de dos minutos tiene efecto en la disminución en la curva de crecimiento del

Enterococcus Faecalis ATCC 29212, existiendo un menor efecto del ozono en relación al Isodine.

8. El agua bidestilada ozonizada a concentración de treinta minutos con exposición de cuatro minutos tiene efecto en la disminución en la curva de crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212, existiendo un menor efecto del ozono en relación al Isodine.
9. El agua bidestilada ozonizada a concentración de treinta minutos con exposición de seis minutos tiene elevado efecto en la disminución en la curva de crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212, se concluye también que el Isodine no tiene ningún efecto sobre el crecimiento del microorganismo, podemos reafirmar que a mayor tiempo de exposición del ozono sobre el microorganismo mayor efecto sobre la inhibición de la curva de crecimiento.

## SUGERENCIAS

1. Se sugiere a nuevos tesisistas realizar estudios que puedan evaluar el efecto del ozono, pero con una muestra más grande, buscando un mayor respaldo científico y así promover el agua bidestilada ozonizada como un irrigante intraconducto.
2. Se sugiere a los investigadores en nuevos estudios dar mayor énfasis al tiempo de exposición sobre el microorganismo ya que, se encontró que a mayor tiempo de exposición mayor eficacia, todo lo contrario de nuestro grupo control positivo que fue nuestro parámetro ya que es usado en la consulta como irrigante, del que se encontró que a mayor tiempo de exposición disminuía Su efecto.

## REFERENCIAS

- 1.- Noites R, Pina-Vaz C, Rocha R, Fontes M, Gonçalvez A, Pina-Vaz I. y ergistic antimicrobial action of chlorhexidine and ozone in endodontic treatment. *Biomed Res Int.* 2014; 2014 (1): 1-6.
- 2.- Patel PV, Kumar S, Vidya GD, Patel A, Holmes JC, Kumar V. Cytological sssessment of healing palatal donor site wounds and grafted gingival wounds after application of ozonated oil: an eighteen-month randomized controlled clinical trial. *Acta Cytol.* 2012; 56 (3): 277-284.
- 3.- Seidler V, Linetskiy I, Hubalkova H, Staekova H, Šmucler R, Mazanek J. Ozone and its usage in general medicine and dentistry. A review article. *Prague Medical Report.* 2008; 109 (1): 5-13.
- 4.- Lüdi E. (2015). Desinfección con ozono de los conductos radiculares tratados endodónticamente. Facultad de medicina y odontología, Santiago de Compostela.
- 5.- Pilajo F. (2017). Efecto antimicótico del agua ozonificada y el hipoclorito de sodio al 2.5% frente a *Candida albicans*, Ecuador.
- 6.- Torres A. (2016). Estudio in vitro del efecto bactericida del agua ozonizada en comparación con hipoclorito de sodio (5.25%) como sustancias irrigadoras de conductos radiculares humanos sobre *actinomyces israelii*, Ecuador.
- 7.- Pinheiro S., Silva C., Silva L., Cicotti M., Silveira C., Fontana C., Pagrion L., Dalmora N., Daque T., Campos F. (2018). Eficacia antimicrobiana de hipoclorito de sodio al 2.5%, clorhexidina al 2% y agua ozonizada como irrigantes en los conductos radiculares mesiovestibulares con curvatura severa de los molares mandibulares, Brasil.
- 8.- Sánchez C. (2017). Eficacia de los enjuagatorios con agua ozonizada en el control de los niveles de placa bacteriana y de *Streptococcus mutans* en cavidad oral, Universidad Nacional de Trujillo.
- 9.- Carhuayo M. (2017). Evaluación in vitro de la eficacia antibacteriana de los irrigantes endodónticos hipoclorito de sodio al 1% a temperatura de 37° y agua ozonizada frente a una cepa de *Enterococcus Faecalis*, Universidad Nacional de Trujillo.

- 10.- Fontoura T., Longhi G., Montagner F., Scur A., Steier L., Scarparo R., Figueiredo J., Vier-Pelisser F. (2016). Niveles de Ips en endodoncias después del uso de gas ozono y pulsos eléctricos de alta frecuencia.
- 11.- Salmero P. (2017). Efecto antibacteriano del hipoclorito sódico, terapia fotodinámica, clorhexidina 2%, pasta triantibiótica, propolis y ozono en canales experimentalmente infectados con *Enterococcus Faecalis* estudio in vitro, España-Murcia
- 12.- Benalcázar M. (2015) estudio comparativo in vitro sobre la efectividad de la pasta de hidróxido de calcio, del aceite ozonizado, la irrigación con clorhexidina al 2% y la irrigación convencional y ultrasónica pasiva con hipoclorito de sodio al 5.25% frente al *Enterococcus Faecalis* en dentina de bovino, Quito
- 13.- Marcavillaca A., Jiménez O., Quenaya G., Ortega-Cruz H., (2018). Actividad antibacteriana in vitro del propilenglicol ozonizado (endozone®) sobre *Enterococcus Faecalis* en conductos radiculares de dientes de bovino
- 14.- P, Newman. Introduction to stratospheric ozone. s.l. : Todara textbook, 2005
- 15.- Quispe B. (2017). Eficacia del número de aplicaciones del endozone en la desinfección de conductos radiculares en pacientes de la clínica odontológica, UNA-Puno, Arequipa Perú.
- 16.- American water work assosietion. Water Treatment Plant Design. tercera. s.l. : Me Graw Hill, 1998, págs. 254-270.
- 17.- Urban air polution. Fenger J, y col. Holanda : Dordrech, 1999.
- 18.- Application of ozone in the treatment of periodontal disease. A, Srikanth. 5, s.l. : JPharm Bioallied, 2013, págs. 89-94
- 19.- Medina A. Fry M. Ozonoterapia en odontología: Tratamiento alternativo en Periodoncia, Publicación JPAPO, Lima Perú
- 20.- Fernández C. Hidalgo O. Ramos J. Sánchez R. (2019) Medida de la concentración del ozono en agua en dosis bajas. Publicación Oficial de Aepromo, Madrid, España
- 21.- Díaz J. Macías C. Menéndez S. (2013) Efecto modulador de la ozonoterapia sobre la actividad del sistema inmune, revista cubana de hematología, la Habana Cuba

- 22.- Kindelán L. Cordies B. Miranda M. (2016), Buenas prácticas clínicas de enfermería en la aplicación de ozonoterapia en pacientes con afecciones crónicas, revista cubana de Enfermería, la Habana, Cuba
- 23.- Cadena E. (2020), Evaluación de la ozonoterapia en gingivitis de caninos en la clínica veterinaria zoocat, Latacunga, Ecuador
- 24.- Fernández B. Radovic B. (2018), Aplicaciones de la ozonoterapia en la odontología, Santiago, Chile.
- 25.- Hidalgo-Tallón F. Torres L. (2013), Ozonoterapia en medicina del dolor. Revisión. Revista de la sociedad española del dolor, Cádiz, España.
- 26.- OZONETECH, acerca del Ozono, preguntas frecuentes, España
- 27.- Infosalus, (2018) La ozonoterapia: seis efectos beneficiosos para numerosas patologías, SEOT España
- 28.- Núñez C. Mecanismos de Acción del ozono. Aspectos generales. Asociación mexicana de Ozonoterapia, México
- 29.- Díaz J. Sardiñas G. Menéndez S. Macías C. (2012,18), Efecto inmunomodulador de la ozonoterapia en niños con deficiencia en la inmunidad mediada por fagocitos. Cuba
- 30.- Donoso S. (2020) Microbiología: bacterias, Hospital Dicrepa, Santiago de Chile
- 31.- Guilarte C. Perrone M. (2003) Bacterias periodonto patógenas: bacilos anaerobios gram negativos como agentes etiológicos de la enfermedad periodontal, Universidad Central de Venezuela. Venezuela.
- 32.- GUALTERO D., CASTELLANOS J. PÉREZ G. LAFAURIE G. (2008), Purificación de lipopolisacárido de *Porphyromonas gingivalis* libre de polisacáridos utilizando cromatografía de alta resolución sephacryl S-200, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.
- 33.- Barasoain M. (2015) Estudio inmunobiológico de endotoxinas bacterianas, Universidad Complutense de Madrid, España
- 34.- Cabrera M. (2004), Estudio microbiológico bacteria Prevotella Intermedia en el surco gingival de gestantes con diferentes grados de placa bacteriana – hospital nacional docente niño san Bartolomé, Lima Perú.

- 35.- Berzosa A. (2015), Contribución al estudio de los cocos anaerobios Gram (+), Universidad Complutense de Madrid, España
- 36.- Ojeda J. Oviedo E. Salas L. (2013), Streptococcus mutans and dental caries, Universidad Cooperativa de Colombia –Pasto, Colombia.
- 37.- Pérez M. Martínez C. Zhurbenko R. (2010), Aspectos Fundamentales sobre el género Enterococcus como patógeno de elevada importancia en la actualidad, Revista de higiene y epidemiología, Cuba.
- 38.- Diaz A. (2008), Aspectos relevantes de Enterococcus Faecalis y su participación en las infecciones de origen endodóntico, Universidad central de Venezuela, Venezuela.
- 39.- Pardi G. Cardozo E. (2002), Algunas consideraciones sobre Cándida albicans como agente etiológico de candidiasis bucal, Acta Odontológica venezolana, Venezuela
- 40.- Ríos J.C. (2017), Avances en la microbiología en la periodontitis, Lima Perú
- 41.- Guilarte, C. Pardi G. Céspedes C. (2005), Cambios taxonómicos en el grupo de Bacilos Anaerobios Gram Negativos de interés en Odontología. Acta Odontológica venezolana, Venezuela.
- 42.- Jawetz, E. (2019). Manual de Microbiología Médica. Editorial Manual Moderna. 28ava Edición México.
- 43.- Brock, Th. (2015). Biología de los microorganismos. PEARSON EDUCACIÓN, SA. 14va Edición, España.
- 44.- Guersi, A. 1989. Métodos de Análisis Clínicos y su interpretación. Editorial EL ATÉNO 4ta Edición ARGENTINA, 85, 86. 88, 90. 91.
- 45.- Bailey, S. (2009) Diagnóstico Microbiológico. Editorial Panamericana. 12ava. Edición Buenos Aires, Argentina.
46. Vitoria, M. Auguste Comte. Philosophica: Enciclopedia filosófica on line, URL: <http://www.philosophica.info/archivo/2009/voces/comte/Comte.html>
47. Fernández, T. Tamaro, E. Resumen de Curso de filosofía positiva, de Augusto Comte. En Biografías y Vidas. La enciclopedia biográfica en línea [Internet]. Barcelona, España, 2004. Disponible en [https://www.biografiasyvidas.com/obra/curso\\_filosofia\\_positiva.htm](https://www.biografiasyvidas.com/obra/curso_filosofia_positiva.htm) [fecha de acceso: 26 de junio de 2022].
48. Guaman, K. Hernandez, E. Lloay S. El positivismo y el positivismo jurídico, Revista Universidad y Sociedad, versión On-line ISSN 2218-3620

49. Pérez J. El Positivismo y la Investigación Científica, Revista Empresarial, ICE-FEE-UCSG, Universidad Católica Santiago de Guayaquil, Ecuador
50. Martínez, K. Frías L. Figueredo M. Surgimiento y desarrollo de la endodoncia, Revista Científico Estudiantil de las Ciencias Médicas de Cuba, Facultad De Estomatología "Raúl González Sánchez".
51. Bueno, R. Manual de Endodoncia. Parte 2. Historia de la Endodoncia. Rev Oper Dent Endod 2006; Revista Odontológicas de Especialidades
52. Rivas, R. Introducción al Estudio de la Endodoncia, UNAM, disponible: <https://www.iztacala.unam.mx/rrivas/introduccion2.html>
53. Leonardo, M. Leal, J. Lorenzo, I. Endodoncia: tratamiento de los conductos radiculares, Buenos Aires: artes Médicas latinoamericana, 2005
54. Cárdenas, H. La función del funcionalismo: una exploración conceptual, Universidad Ludwig Maximilian de Munich, Alemania, Sociologías, vol. 18, núm. 41, pp. 196-214, 2016
55. Calderón, J. El funcionalismo, disponible: <https://www2.politicas.unam.mx/sae/wp-content/uploads/2014/09/ElFuncionalismoSoc.pdf>

## **ANEXOS**

## ANEXO 01. MATRIZ DE CONSISTENCIA

### TITULO: EFECTO ANTIBACTERIANO IN-VITRO DEL AGUA BIDEUTILADA OZONIZADA SOBRE EL ENTEROCOCCUS FAECALIS

Planteamiento del problema	Objetivos	Hipótesis	Variables e indicadores	Muestra	Diseño	Instrumento	Estadística
<p><b>PROBLEMA PRINCIPAL</b></p> <p>¿Cuál es el efecto del agua bidestilada ozonizada en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212?</p>	<p><b>OBJETIVO GENERAL</b></p> <p>Determinar el efecto del agua bidestilada ozonizada en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212.</p>	<p><b>HIPÓTESIS GENERAL</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Hi: El agua bidestilada ozonizada tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212</li> <li>• Ho: El agua bidestilada ozonizada NO tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del Enterococcus</li> </ul>	<p><b>VARIABLE DEPENDIENTE</b></p> <p>Agua bidestilada ozonizada</p>	<p><b>Población:</b></p> <p>Cepa patrón Enterococcus Faecalis ATCC 29212</p> <p><b>Muestra:</b></p> <p>Muestreo no probabilístico con un muestreo intencionado. Cultivos de Enterococcus Faecalis ATCC 29212</p>	<p><b>Método:</b></p> <p>Investigación experimental</p> <p><b>Diseño</b></p> <p>Longitudinal</p>	<p>Ficha de observación de datos</p>	<p>Estadístico SPSS y la base de datos Microsoft Excel Resultados representados en gráficos y tablas</p>

		Faecalis ATCC 29212					
<p><b>PROBLEMAS ESPECÍFICOS</b></p> <p>1. ¿Cuál es el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por dos minutos?</p> <p>2. ¿Cuál es el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos?</p> <p>3. ¿Cuál es el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto, en la inhibición in vitro del</p>	<p><b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b></p> <p>1. Determinar el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por dos minutos</p> <p>2. Determinar el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212</p>	<p><b>HIPOTESIS ESPECIFICAS</b></p> <p><b>Hipótesis específica 1</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Hi: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por dos minutos</li> <li>• Ho: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto no tiene la capacidad de</li> </ul>	<p><b>VARIABLE INDEPENDIENTE</b></p> <p>Crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212</p>				

<p>crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por seis minutos?</p> <p>4. ¿Cuál es el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por dos minutos?</p> <p>5. ¿Cuál es el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos?</p> <p>6. ¿Cuál es el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por seis minutos?</p>	<p>aplicada por cuatro minutos</p> <p>3. Determinar el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por seis minutos</p> <p>4. Determinar el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por dos minutos</p> <p>5. Determinar el efecto del agua bidestilada ozonizada a</p>	<p>inhibir in vitro el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por dos minutos</p> <p><b>Hipótesis específica 2</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Hi: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos</li> <li>• Ho: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto no tiene la capacidad de</li> </ul>					
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--	--	--	--	--

<p>7. ¿Cuál es el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minutos, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por dos minutos?</p>	<p>concentración de 15 minutos, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos</p>	<p>inhibir in vitro el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos</p>					
<p>8. ¿Cuál es el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minutos, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos?</p>	<p>6. Determinar el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minutos, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por seis minutos</p>	<p><b>Hipótesis específica 3</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Hi: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por seis minutos</li> </ul>					
<p>9. ¿Cuál es el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minutos, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por seis minutos?</p>	<p>7. Determinar el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minutos, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ho: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 1 minuto no tiene la capacidad de</li> </ul>					

	<p>aplicada por dos minutos</p> <p>8. Determinar el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos</p> <p>9. Determinar el efecto del agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minuto, en la inhibición in vitro del crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por seis minutos</p>	<p>inhibir in vitro el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por seis minutos</p> <p><b>Hipótesis específica 4</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Hi: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minuto tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por dos minutos</li> <li>• Ho: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minuto no tiene la capacidad de inhibir in vitro</li> </ul>					
--	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--	--	--	--	--

		<p>el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por dos minutos</p> <p><b>Hipótesis específica 5</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Hi: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minuto tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos</li><li>• Ho: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minuto no tiene la capacidad de inhibir in vitro</li></ul>					
--	--	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--	--	--	--	--

		<p>el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos</p> <p><b>Hipótesis específica 6</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Hi: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minuto tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por seis minutos</li><li>• Ho: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 15 minuto no tiene la capacidad de inhibir in vitro</li></ul>					
--	--	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--	--	--	--	--

		<p>el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por seis minutos</p> <p><b>Hipótesis específica 7</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Hi: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minuto tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por dos minutos</li><li>• Ho: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minuto no tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del</li></ul>					
--	--	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--	--	--	--	--

		<p>Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por dos minutos</p> <p><b>Hipótesis específica 8</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Hi: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minuto tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos</li><li>• Ho: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minuto no tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del</li></ul>					
--	--	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--	--	--	--	--

		<p>Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por cuatro minutos</p> <p><b>Hipótesis específica 9</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Hi: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minuto tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por seis minutos</li><li>• Ho: El agua bidestilada ozonizada a concentración de 30 minuto no tiene la capacidad de inhibir in vitro el crecimiento del</li></ul>					
--	--	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--	--	--	--	--

		Enterococcus Faecalis ATCC 29212 aplicada por seis minutos					
--	--	---------------------------------------------------------------------	--	--	--	--	--

**ANEXO 02. FICHA DE OBSERVACIÓN DE DATOS**

**RESULTADOS DE LA ACCIÓN ANTIMICROBIANA DEL AGUA BIDEUTILADA OZONIZADA FRENTE AL  
Enterococcus Faecalis ATCC 29212**

<b>2 minutos</b>		<b>DIÁMETRO DE LA CURVA DE CRECIMIENTO</b>				
<b>SUSTANCIA ANTIMICROBIANA</b>	<b>CONCENTRACIÓN 92,5 ug.</b>	<b>PLACA 1</b>	<b>PLACA 2</b>	<b>PLACA 3</b>	<b>PLACA 4</b>	<b>PLACA 5</b>
<i>Agua bidestilada ozonizada</i>	<b>1 minuto Grupo A</b>					
	<b>15 minutos Grupo B</b>					
	<b>30 minutos Grupo C</b>					
<b>CONTROL (+) Clorhexidina</b>	<b>2 %</b>					
<b>CONTROL (-) Agua destilada</b>						

## RESULTADOS DE LA ACCIÓN ANTIMICROBIANA

### DEL AGUA BIDEUTILADA OZONIZADA FRENTE AL *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212

4 minutos		DIÁMETRO DE LA CURVA DE CRECIMIENTO				
SUSTANCIA ANTIMICROBIANA	CONCENTRACIÓN 92,5 ug.	PLACA 1	PLACA 2	PLACA 3	PLACA 4	PLACA 5
<i>Agua bidestilada ozonizada</i>	1 minuto Grupo A					
	15 minutos Grupo B					
	30 minutos Grupo C					
CONTROL (+) Clorhexidina	2 %					
CONTROL (-) Agua destilada						

**RESULTADOS DE LA ACCIÓN ANTIMICROBIANA DE LAS PRUEBAS  
DEL AGUA BIDEUTILADA OZONIZADA FRENTE AL Enterococcus Faecalis ATCC 29212**

<b>6 minutos</b>		<b>DIÁMETRO DE LA CURVA DE CRECIMIENTO</b>				
<b>SUSTANCIA ANTIMICROBIANA</b>	<b>CONCENTRACIÓN 92,5 ug.</b>	<b>PLACA 1</b>	<b>PLACA 2</b>	<b>PLACA 3</b>	<b>PLACA 4</b>	<b>PLACA 5</b>
<i>Agua bidestilada ozonizada</i>	<b>1 minuto Grupo A</b>					
	<b>15 minutos Grupo B</b>					
	<b>30 minutos Grupo C</b>					
<b>CONTROL (+) Clorhexidina</b>	<b>2 %</b>					
<b>CONTROL (-) Agua destilada</b>						

### ANEXO 03.

## VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

Nombre del experto: \_\_\_\_\_

Especialidad: \_\_\_\_\_

“Calificar con 1, 2, 3, o 4 cada ítem respecto a los criterios de relevancia, coherencia, suficiencia y claridad

VARIABLE	DIMENSIÓN	ÍTEM	RELEVANCIA	COHERENCIA	SUFICIENCIA	CLARIDAD
<i>Agua bidestilada ozonizada</i>	Grupo A 1 minuto	Tipo de concentración				
	Grupo B 15 minuto					
	Grupo C 30 minuto					
<i>Crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212</i>	2 minutos	Medida de halo de inhibición				
	4 minutos					
	6 minutos					

¿Hay alguna dimensión o ítem que no fue evaluada? SI ( ) NO ( ) en caso si

¿Qué dimensión o ítem falta? \_\_\_\_\_

### DECISIÓN DEL EXPERTO

El instrumento debe ser aplicado SI ( ) NO ( )

**Firma y sello del experto**

## VALIDACIÓN POR JUECES O EXPERTOS

Hoja de instrucciones para la evaluación

<b>CATEGORIA</b>	<b>CALIFICACIÓN</b>	<b>INDICADOR</b>
<b>RELEVANCIA</b> El ítem es esencial o importante, es decir, debe ser incluido	1. No cumple con el criterio	El ítem puede ser eliminado sin que se vea afectada la medición de la es dimensión
	2. Bajo nivel	El ítem tiene una alguna relevancia, pero otro ítem puede estar incluyendo lo que mide este
	3. Moderado nivel	El ítem es relativamente importante
	3. Alto nivel	El ítem es muy relevante y debe incluido
<b>COHERENCIA</b> El ítem tiene relación lógica con la dimensión o indicador está midiendo	1. No cumple con el criterio	El ítem puede ser eliminado sin que se vea afectada la medición de la dimensión
	2. Bajo nivel	El ítem tiene una relación tangencial con la dimensión
	3. Moderado nivel	El ítem tiene una relación moderada con la dimensión que está midiendo
	4. Alto nivel	El ítem tiene relación lógica con la dimensión
<b>SUFICIENCIA</b> Los ítems que pertenecen a una misma dimensión bastan para obtener la medición de esta.	1. No cumple con el criterio	Los ítems no son suficientes para medir la dimensión
	2. Bajo nivel	Los ítems miden algún aspecto de la dimensión, pero no corresponden la dimensión, pero no corresponden
	3. Moderado nivel	Se deben incrementar algunos ítems para poder evaluar la dimensión completamente
	4. Alto nivel	Los ítems son suficientes
<b>CLARIDAD</b> El ítem se comprende fácilmente, es decir, sus sintácticas y semánticas son adecuadas	1. No cumple con el criterio	El ítem no es claro
	2. Bajo nivel	El ítem requiere bastantes modificaciones o una modificación muy grande en el uso de las palabras que

		utilizan de acuerdo a su significado o por la ordenación de los mismos
	3. Moderado nivel	Se requiere una modificación muy específica de algunos términos de ítem.
	4. Alto nivel	El ítem es claro, tiene semántica y sintaxis adecuada

ANEXO 03.

Validación de Instrumento

Nombre del experto: Rosario Isabel Soto Brunga

Especialidad: Dra. Ciencias de la Salud

\*Calificar con 1, 2, 3, o 4 cada ítem respecto a los criterios de relevancia, coherencia, suficiencia y claridad

VARIABLE	DIMENSIÓN	ÍTEM	RELEVANCIA	COHERENCIA	SUFICIENCIA	CLARIDAD
<i>Agua bidestilada ozonizada</i>	Grupo A 1 minuto	Tipo de concentración	4	4	4	4
	Grupo B 15 minuto		4	4	4	4
	Grupo C 30 minuto		4	4	4	4
<i>Crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212</i>	2 minutos	Medida de halo de inhibición	4	3	3	4
	4 minutos		3	3	4	4
	6 minutos		4	4	4	4

¿Hay alguna dimensión o ítem que no fue evaluada? SI ( ) NO (X) en caso si

¿Qué dimensión o ítem falta? \_\_\_\_\_

DECISIÓN DEL EXPERTO

El instrumento debe ser aplicado SI (X) NO ( )



Firma y sello del experto

ANEXO 03.

Validación de Instrumento

Nombre del experto: Jelanda Victoria Leon Villalobos

Especialidad: Doctrina en Educación e Investigación

“Calificar con 1, 2, 3, o 4 cada ítem respecto a los criterios de relevancia, coherencia, suficiencia y claridad

VARIABLE	DIMENSIÓN	ÍTEM	RELEVANCIA	COHERENCIA	SUFICIENCIA	CLARIDAD
Agua bidestilada ozonizada	Grupo A 1 minuto	Tipo de concentración	4	4	4	4
	Grupo B 15 minuto		3	4	4	4
	Grupo C 30 minuto		3	4	3	4
Crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212	2 minutos	Medida de halo de inhibición	4	4	3	3
	4 minutos		4	4	3	3
	6 minutos		4	4	4	4

¿Hay alguna dimensión o ítem que no fue evaluada? SI ( ) NO (x) en caso si

¿Qué dimensión o ítem falta? \_\_\_\_\_

DECISIÓN DEL EXPERTO

El instrumento debe ser aplicado SI (x) NO ( )

  
0012734  
Firma y sello del experto

ANEXO 03.

Validación de Instrumento

Nombre del experto: EDUARDO JOSE LONGA RAMOS

Especialidad: DR: CIENCIAS DE LA SALUD

“Calificar con 1, 2, 3, o 4 cada ítem respecto a los criterios de relevancia, coherencia, suficiencia y claridad

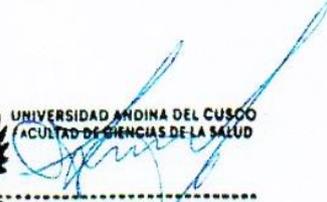
VARIABLE	DIMENSIÓN	ÍTEM	RELEVANCIA	COHERENCIA	SUFICIENCIA	CLARIDAD
Agua bidestilada ozonizada	Grupo A 1 minuto	Tipo de concentración	3	4	4	4
	Grupo B 15 minuto		4	4	4	3
	Grupo C 30 minuto		4	4	3	3
Crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212	2 minutos	Medida de halo de inhibición	3	4	3	4
	4 minutos		4	4	4	4
	6 minutos		4	4	4	4

¿Hay alguna dimensión o ítem que no fue evaluada? SI ( ) NO (x) en caso si

¿Qué dimensión o ítem falta? \_\_\_\_\_

DECISIÓN DEL EXPERTO

El instrumento debe ser aplicado SI (x) NO ( )


 UNIVERSIDAD ANDINA DEL CUSCO  
 FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
  
 Dr. CD. Eduardo J. Longa Ramos  
 DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO ACADÉMICO  
 Firma y sello del experto

ANEXO 03.

Validación de Instrumento

Nombre del experto: César Venegas Henríquez

Especialidad: Cirujano Maxilo Facial

“Calificar con 1, 2, 3, o 4 cada ítem respecto a los criterios de relevancia, coherencia, suficiencia y claridad

VARIABLE	DIMENSIÓN	ÍTEM	RELEVANCIA	COHERENCIA	SUFICIENCIA	CLARIDAD
Agua bidestilada ozonizada	Grupo A 1 minuto	Tipo de concentración	3	3	3	3
	Grupo B 15 minuto		4	4	4	4
	Grupo C 30 minuto		4	3	4	3
Crecimiento del Enterococcus Faecalis ATCC 29212	2 minutos	Medida de halo de inhibición	4	3	4	4
	4 minutos		4	4	4	3
	6 minutos		4	3	4	4

¿Hay alguna dimensión o ítem que no fue evaluada? SI ( ) NO (x) en caso si

¿Qué dimensión o ítem falta? \_\_\_\_\_

DECISIÓN DEL EXPERTO

El instrumento debe ser aplicado SI (x) NO ( )

Firma y sello del experto



ANEXO 03.

Validación de Instrumento

Nombre del experto: Dr. Julio Lazo Alvarado

Especialidad: Doctor en Estomatología

“Calificar con 1, 2, 3, o 4 cada ítem respecto a los criterios de relevancia, coherencia, suficiencia y claridad

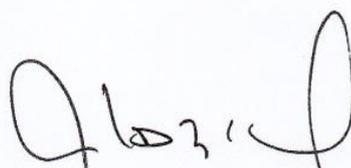
VARIABLE	DIMENSIÓN	ÍTEM	RELEVANCIA	COHERENCIA	SUFICIENCIA	CLARIDAD
Agua bidestilada ozonizada	Grupo A 1 minuto	Tipo de concentración	3	3	4	4
	Grupo B 15 minuto		3	4	4	4
	Grupo C 30 minuto		4	4	3	4
Crecimiento del <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 29212	2 minutos	Medida de halo de inhibición	4	4	4	4
	4 minutos		4	3	4	4
	6 minutos		4	3	3	3

¿Hay alguna dimensión o ítem que no fue evaluada? SI ( ) NO (X) en caso si

¿Qué dimensión o ítem falta? \_\_\_\_\_

DECISIÓN DEL EXPERTO

El instrumento debe ser aplicado SI (X) NO ( )

  
**Firma y sello del experto**  
 Dr. Julio Lazo Alvarado

**SOLICITO: AUTORIZACION PARA UTILIZAR  
LABORATORIOS DE CIENCIAS BÁSICAS**

**SEÑORA:**

**Dra. YANET CASTRO VARGAS**

**DECANA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**UNIVERSIDAD ANDINA DEL CUSCO**

Yo, **Martin Wilfredo Tipian Tasayco**, identificado con D.N.I. N° 21521686 con domicilio ubicado en Av. Pacifico, Urb. Sanantonio del Distrito de San Sebastián, Provincia y Departamento del Cusco, ante usted me presento con el debido respeto y expongo lo siguiente:

Que, estando concluyendo mis estudios de doctorado en Ciencias de la Salud y en el compromiso con la investigación científica para el avance y difusión de la ciencia y tecnología, con ética y responsabilidad socio-ambiental y siendo una meta de cada estudiante al culminar con la formación académica realizar un trabajo de investigación para obtener el grado académico, mi persona viene realizando el trabajo de investigación intitulado “EFECTO ANTIBACTERIANO IN-VITRO DEL AGUA BIDEFILADA OZONIZADA SOBRE EL ENTEROCOCCUS FAECALIS”, siendo indispensable la utilización de ambientes adecuados, para la obtención de resultados óptimos en dicha investigación, motivo por el cual solicito a su despacho tenga a bien atender la presente petición de **AUTORIZACION DE USO DE LOS AMBIENTES DE LOS LABORATORIOS DE CIENCIAS BÁSICAS (LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN III DE MICROBIOLOGÍA)** y la utilización de los insumos, materiales, reactivos y equipamiento necesarios, cumpliendo todas las normas de bioseguridad reglamentadas en nuestra Universidad.

Así mismo solicito la autorización de ingreso del Blgo. Lugó Miranda fuera de sus horarios de trabajo, de quién he solicitado sus servicios profesionales para el apoyo al desarrollo de mi trabajo de investigación en los siguientes horarios: jueves y viernes de 3:30 a 8:00 pm y sábados de 7:00 am a 8:00 pm.

Por lo expuesto: Ruego a usted acceder a lo solicitado por ser de justicia.

Cusco, 28 de noviembre del 2022.

**MGT. Martin Wilfredo Tipian Tasayco**

**INVESTIGADOR POST GRADO**



Universidad  
Andina  
del Cusco

## Facultad de Ciencias de la Salud

"Año de la unidad, la paz y el desarrollo"



Cusco, 06 de marzo de 2023

PROVEÍDO N° 127-2023-FCSA-UAC

REFERENCIA: OFICIO N° 009-2023-LAB.CB-FCSALUD-UAC  
PROVEÍDO N° 747-2022-FCSA-UAC

A: **DRA. HERMINIA NAVEDA**  
DIRECTORA DEL LABORATORIO DE CIENCIAS BASICAS

**CAPITAN PNP (r) RODOLFO STELMAN RODRIGUEZ**  
SUPERVISOR DE SEGURIDAD DE CAMPUS QOLLANA

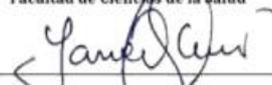
**VISTO:** Los documentos que anteceden en referencia, se otorga la autorización para el ingreso y uso de los Laboratorios de Ciencias Básicas para el desarrollo del proyecto de investigación titulado: "EFECTO ANTIBACTERIANO IN-VITRO DEL AGUA BIDESTILADA OZONIZADA SOBRE EL Enterococcus faecalis" del Mg. C.D. MARTIN WILFREDO TIPIAN TASAYCO.

Así mismo, se solicita realizar las coordinaciones pertinentes con el interesado para el horario de uso del laboratorio y otros que considere.

**Regístrese**.....



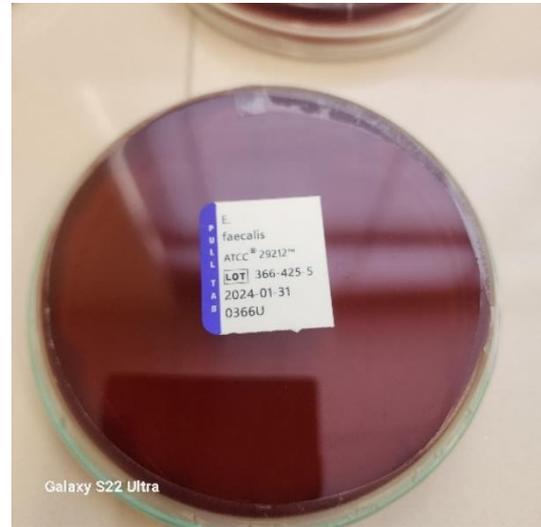
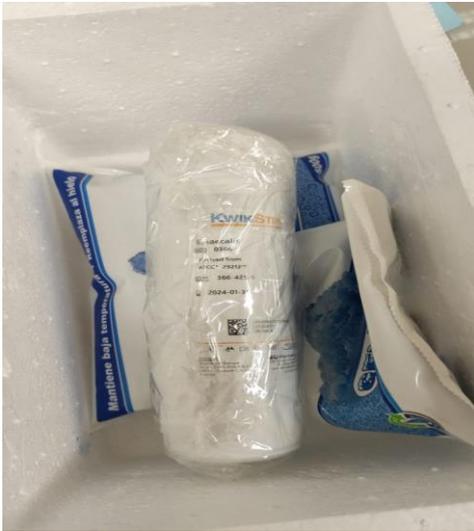
Atentamente,  
UNIVERSIDAD ANDINA DEL CUSCO  
Facultad de Ciencias de la Salud

  
Dra. Yanet Castro Vargas  
DECANA

FCS/YCV/amcfm  
C.c. -  
archivo.

# DOCUMENTACIÓN FOTOGRÁFICA

## Arribo de la Cepa Enterococcus Faecalis ATCC 29212



## Activación de la cepa



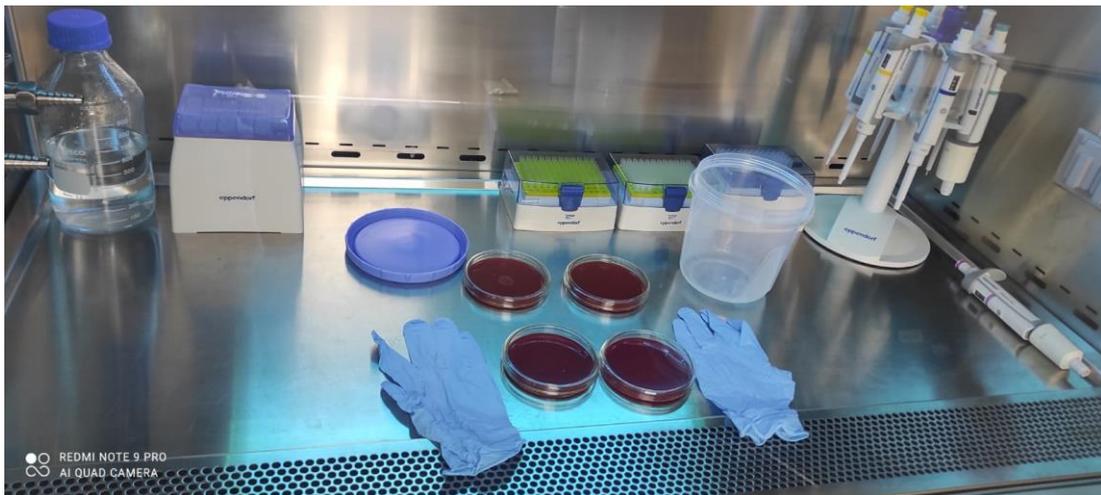


**Esterilización de los recipientes de acopio del agua bidestilada ozonizada**





**Esterilizadora UV, Esterilización de TODOS los materiales a usar**





Galaxy S22 Ultra



Galaxy S22 Ultra



Galaxy S22 Ultra

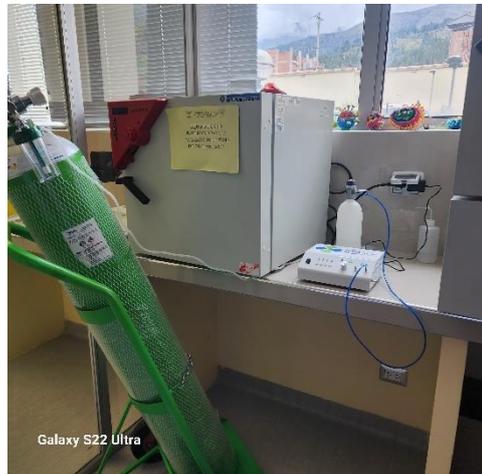


Galaxy S22 Ultra

## Equipo de Ozono

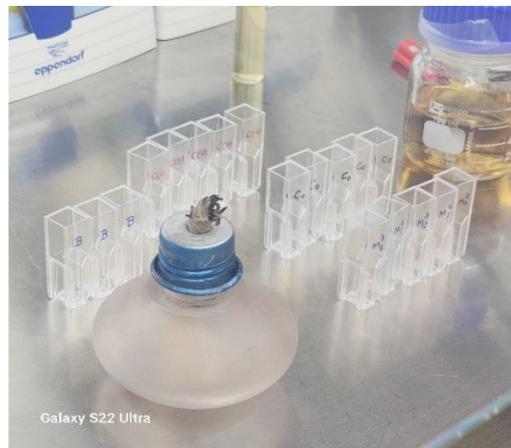


Galaxy S22 Ultra

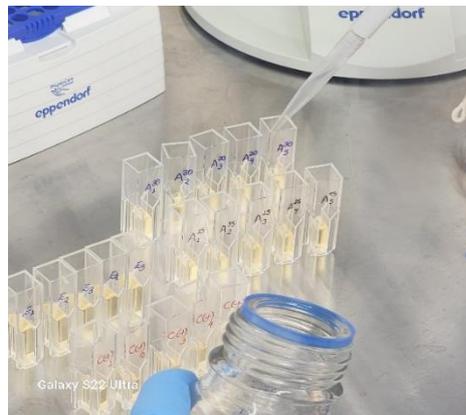
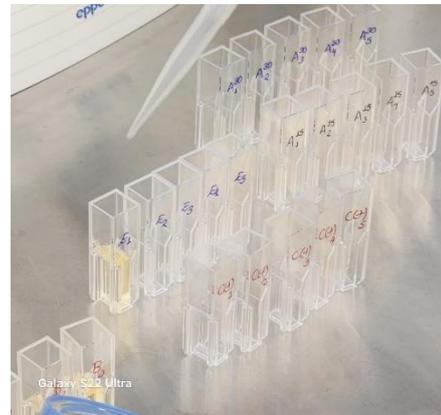
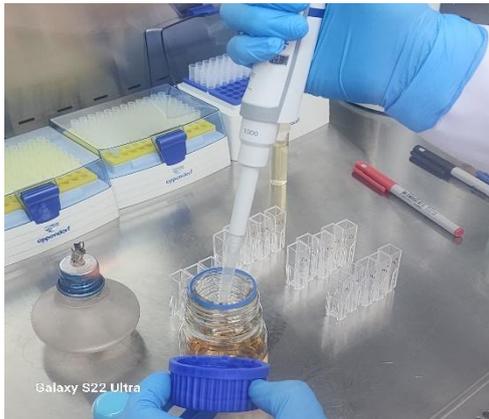


Galaxy S22 Ultra

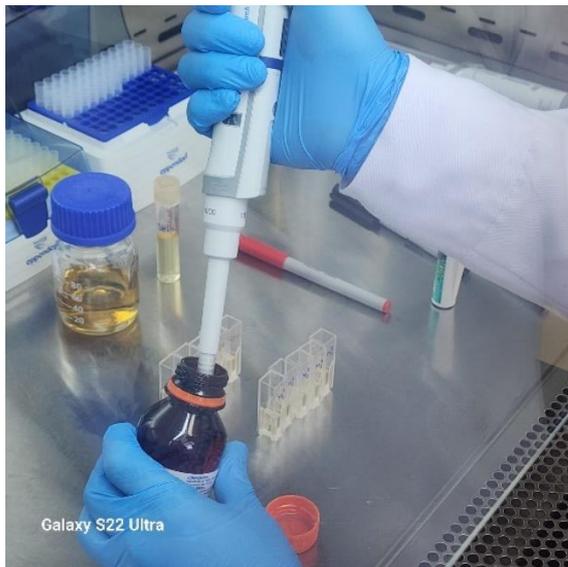
## Codificando los recipientes para las muestras



## Colocando el medio de cultivo en los recipientes ya codificados



## Control positivo



## Sellando las muestras



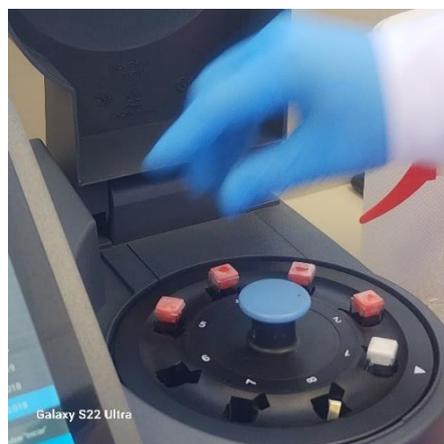
## Trasladando las muestras para su lectura en los tiempos establecidos



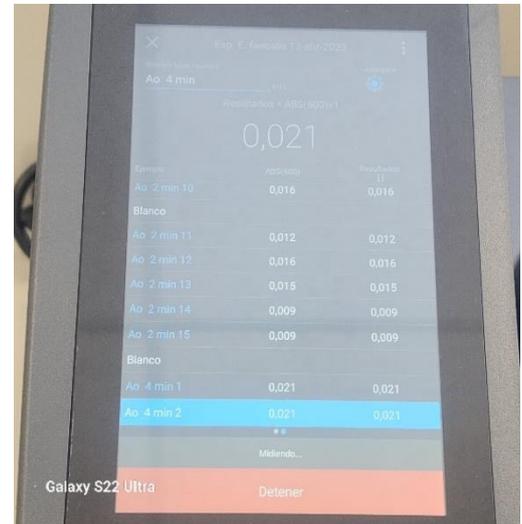
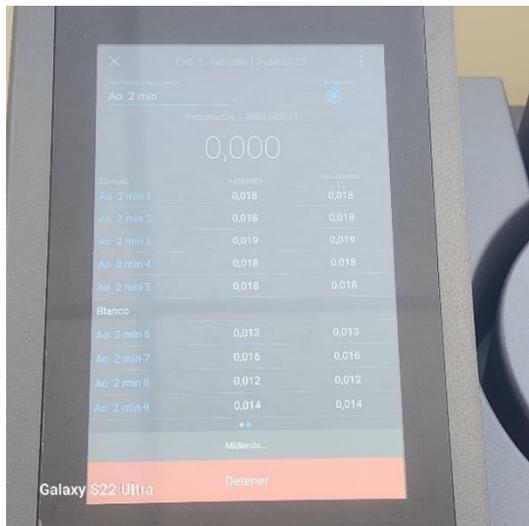
## Equipo espectrofotómetro Genesis 150 UV-VISIBLE



## Dando lectura a los datos en el equipo espectrofotómetro



## Lecturas de las muestras a los 2, 4 y 6 minutos



## **NOTA BIOGRÁFICA**

Martin Wilfredo Tipián Tasayco, nació el 15 de setiembre de 1968 en la ciudad de Pisco, Provincia y departamento de Ica, desde su nacimiento fue criado en la ciudad de Nazca hasta la edad de 6 años donde migra con su familia a la provincia de Ica y realizó sus estudios primarios en el Centro educativo 23008, habiendo realizado sus estudios secundarios en el C.B. “Antonia Moreno de Cáceres”, estudió Odontología titulándose como Cirujano Dentista en la Universidad Nacional “San Luis Gonzaga de Ica”, en este tiempo participa y queda en segundo puesto en el concurso de canta-autores “Canción por la paz, la vida y en contra de la drogas” realizado por el COPUID (ministerio de educación) y auspiciado por la embajada de EE.UU.

Hizo su SERUMS en el C.S. “La Recoleta” (IPSS) de la ciudad del Cusco en el año 1996, luego ingresa a la docencia universitaria en la Universidad Andina del Cusco, en el año 1998 como contratado y es nombrado en el año 2000 donde viene desarrollándose como docente universitario, así como ocupando diversos cargos administrativos como secretario académico de la facultad de ciencias de la salud, jefe del departamento de Estomatología, coordinador de internado de la escuela profesional de Estomatología, miembro de los diferentes estamentos universitarios hasta la actualidad, donde se desenvuelve como director del Centro Estomatológico Universitario “Luis Vallejos Santoni”, en este tiempo estudia la maestría en Estomatología Universidad Peruana Cayetano Heredia. Desarrolla la consulta privada desde el año 1995 en Consultorios Odontológicos Especializados. Tiene pasatiempos y hobbies como la música coleccionando CD Originales y Lps de época, cuenta con una colección de autos a escala y practica el plastimodelismo sobretodo de aviones. Padre de 04 hermosos hijos que son su motor para seguir en la vida con altibajos como en todo sitio mantiene su matrimonio y espera poder cumplir sus metas con la ayuda de Dios del cual es muy creyente.



"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres"

"Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho"

*Entregar*

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR**

A través de la Plataforma Microsoft Teams de la Escuela de Posgrado de la UNHEVAL, siendo las 08:00 horas del día sábado 21 de octubre del 2023, se reunieron, los miembros integrantes del Jurado Evaluador;

<b>Dra. Digna Amabilia MANRIQUE DE LARA SUAREZ</b>	<b>PRESIDENTA</b>
<b>Dra. Violeta Benigna ROJAS BRAVO</b>	<b>SECRETARIA</b>
<b>Dr. Ewer PORTOCARRERO MERINO</b>	<b>VOCAL</b>
<b>Dra. María Luz ORTIZ DE AGUI</b>	<b>VOCAL</b>
<b>Dr. Guillermo Augusto BOCANGEL WEYDERT</b>	<b>VOCAL</b>

Acreditados mediante Resolución N° 00688-2024-UNHEVAL-EPG/D de fecha 16 de octubre del 2023, de la tesis titulada "EFECTO ANTIBACTERIANO IN-VITRO DEL AGUA BIDEUTILIZADA OZONIZADA SOBRE EL ENTEROCOCCUS FAECALIS", presentada por el doctorando **Martin Wilfredo TIPIAN TASAYCO**, con el asesoramiento del **Dr. Edwin Roger ESTEBAN RIVERA**, se procedió a dar inicio el acto de sustentación para optar el **Grado de Doctor en Ciencias de la Salud**.

Concluido el acto de sustentación, cada miembro del Jurado Evaluador procedió a la evaluación del maestrando, teniendo presente los siguientes criterios:

1. Presentación personal.
2. Exposición: el problema a resolver, hipótesis, objetivos, resultados, conclusiones, los aportes, contribución a la ciencia y/o solución a un problema social y recomendaciones.
3. Grado de convicción y sustento bibliográfico utilizados para las respuestas a las interrogantes del Jurado.
4. Dicción y dominio de escenario.

Nombres y Apellidos del Doctorando	Jurado Evaluador					Promedio Final
	Presidenta	Secretaría	Vocal	Vocal	Vocal	
<b>Martin Wilfredo TIPIAN TASAYCO</b>	17	17	17	17	17	17

Obteniendo en consecuencia el doctorando **Martin Wilfredo TIPIAN TASAYCO** la nota de Diecisiete (17), equivalente a muy bueno, por lo que se declara aprobado.

Calificación que se realiza de acuerdo con el Art. 78° del Reglamento General de Grados y Títulos Modificado de la UNHEVAL.

Se da por finalizado el presente acto, siendo las 21:30 horas del día sábado 21 de octubre del 2023, firmando en señal de conformidad.

  
 PRESIDENTA  
 DNI N° 06927959

  
 SECRETARIA  
 DNI N° 22486839

  
 VOCAL  
 DNI N° 41532361

  
 VOCAL  
 DNI N° 82423192

  
 VOCAL  
 DNI N° 22468224

Leyenda:  
 19 a 20: Excelente  
 17 a 18: Muy Bueno  
 14 a 16: Bueno  
 0 a 13: Deficiente



UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN



ESCUELA DE POSGRADO

## CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD

*La que suscribe:*

***Dra. Digna Amabilia Manrique de Lara Suarez***

### **HACE CONSTAR:**

Que, la tesis titulada: **“EFECTO ANTIBACTERIANO IN-VITRO DEL AGUA BIDESTILADA OZONIZADA SOBRE EL ENTEROCOCCUS FAECALIS”**, realizado por el Doctorando en Ciencias de la Salud, **Martin Wilfredo TIPIAN TASAYCO**, cuenta con un **índice de similitud del 19%**, verificable en el Reporte de Originalidad del software Turnitin. Luego del análisis se concluye que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio; por lo expuesto, la Tesis cumple con las normas para el uso de citas y referencias, además de no superar el 20,0% establecido en el Art. 233° del Reglamento General de la Escuela de Posgrado Modificado de la UNHEVAL (Resolución Consejo Universitario N° 0720-2021-UNHEVAL, del 29.NOV.2021).

*Cayhuayna, 11 de octubre de 2023.*



***Dra. Digna Amabilia Manrique de Lara Suarez***  
**DIRECTORA DE LA ESCUELA DE POSGRADO**

NOMBRE DEL TRABAJO

**EFFECTO ANTIBACTERIANO IN-VITRO DE  
L AGUA BIDESTILADA OZONIZADA SOB  
RE EL ENTEROCOCCUS FAECALIS**

AUTOR

**MARTIN WILFREDO TIPIAN TASAYCO**

RECUENTO DE PALABRAS

**20745 Words**

RECUENTO DE CARACTERES

**111032 Characters**

RECUENTO DE PÁGINAS

**97 Pages**

TAMAÑO DEL ARCHIVO

**432.5KB**

FECHA DE ENTREGA

**Oct 11, 2023 10:44 AM GMT-5**

FECHA DEL INFORME

**Oct 11, 2023 10:45 AM GMT-5**

● **19% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos

- 18% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 8% Base de datos de trabajos entregados
- 1% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● **Excluir del Reporte de Similitud**

- Material bibliográfico
- Material citado
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 12 palabras)



## AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DIGITAL Y DECLARACIÓN JURADA DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN, TESIS, TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL O TRABAJO ACADÉMICO PARA OPTAR UN GRADO O TÍTULO PROFESIONAL

### 1. Autorización de Publicación: (Marque con una "X" según corresponda)

Bachiller	<input type="checkbox"/>	Título Profesional	<input type="checkbox"/>	Segunda Especialidad	<input type="checkbox"/>	Maestro	<input type="checkbox"/>	Doctor	<input checked="" type="checkbox"/>
-----------	--------------------------	--------------------	--------------------------	----------------------	--------------------------	---------	--------------------------	--------	-------------------------------------

Ingrese los datos según corresponda.

Facultad/Escuela	
Escuela/Carrera Profesional	
Programa	CIENCIAS DE LA SALUD
Grado que otorga	DOCTOR EN CIENCIAS DE LA SALUD
Título que otorga	

### 2. Datos del (los) Autor(es): (Ingrese los datos según corresponda)

Apellidos y Nombres:	TIPIAN TASAYCO MARTIN WILFREDO							
Tipo de Documento:	DNI	<input checked="" type="checkbox"/>	Pasaporte	<input type="checkbox"/>	C.E.	<input type="checkbox"/>	N° de Documento:	21521686
Correo Electrónico:	coe821m@hotmail.com							
Apellidos y Nombres:								
Tipo de Documento:	DNI	<input type="checkbox"/>	Pasaporte	<input type="checkbox"/>	C.E.	<input type="checkbox"/>	N° de documento:	
Correo Electrónico:								
Apellidos y Nombres:								
Tipo de Documento:	DNI	<input type="checkbox"/>	Pasaporte	<input type="checkbox"/>	C.E.	<input type="checkbox"/>	N° de Documento:	
Correo Electrónico:								

### 3. Datos del Asesor: (Ingrese los datos según corresponda)

Apellidos y Nombres:	ESTEBAN RIVERA EDWIN ROGER							
Tipo de Documento:	DNI	<input checked="" type="checkbox"/>	Pasaporte	<input type="checkbox"/>	C.E.	<input type="checkbox"/>	N° de Documento:	20719667
ORCID ID:	0000-0003-4669-1268							

### 4. Datos de los Jurados: (Ingrese los datos según corresponda, primero apellidos luego nombres)

Presidente	MANRIQUE DE LARA SUAREZ DIGNA AMABILIA
Secretario	ROJAS BRAVO VIOLETA BENIGNA
Vocal	PORTOCARRERO MERINO EWER
Vocal	ORTIZ DE AGUI MARIA LUZ
Vocal	BOCANGEL WEYDERT GUILLERMO AUGUSTO
Accesitario	

### 5. Datos del Documento Digital a Publicar: (Ingrese los datos y marque con una "X" según corresponda)

Ingrese solo el año en el que sustentó su Trabajo de Investigación: (Verifique la Información en el Acta de Sustentación)							2023
Modalidad de obtención del Grado Académico o Título Profesional: (Marque con X según corresponda)	Trabajo de Investigación	<input type="checkbox"/>	Tesis	<input checked="" type="checkbox"/>	Trabajo Académico	<input type="checkbox"/>	Trabajo de Suficiencia Profesional
Palabras claves	OZONO			ENTEROCOCCUS FAECALIS		INHIBICIÓN	
Tipo de acceso: (Marque con X según corresponda)	Abierto	<input type="checkbox"/>	Cerrado*	<input checked="" type="checkbox"/>	Restringido*	<input type="checkbox"/>	Periodo de Embargo
(*) Sustentar razón:							

### 6. Declaración Jurada: (Ingrese todos los datos requeridos completos)

<b>Soy Autor (a) (es) del Trabajo de Investigación Titulado:</b> <i>(Ingrese el título tal y como está registrado en el Acta de Sustentación)</i>
<b>EFFECTO ANTIBACTERIANO IN-VITRO DEL AGUA BIDEUTILADA OZONIZADA SOBRE EL ENTEROCOCCUS FAECALIS</b>
<p>Mediante la presente asumo frente a la Universidad Nacional Hermilio Valdizán (en adelante LA UNIVERSIDAD), cualquier responsabilidad que pueda derivarse por la autoría, originalidad y veracidad del contenido del trabajo de investigación, así como por los derechos de la obra y/o invención presentada. En consecuencia, me hago responsable frente a LA UNIVERSIDAD y frente a terceros de cualquier daño que pudiera ocasionar a LA UNIVERSIDAD o a terceros, por el incumplimiento de lo declarado o que pudiera encontrar causas en los trabajos de investigación presentado, asumiendo toda la carga pecuniaria que pudiera derivarse de ello. Asimismo, por la presente me comprometo a asumir además todas las cargas pecuniarias que pudiera derivar para LA UNIVERSIDAD en favor de terceros con motivos de acciones, reclamaciones o conflictos derivados del incumplimiento de lo declarado o las que encontraren causa en el contenido del Trabajo de Investigación. De identificarse fraude, piratería, plagio, falsificación o que el trabajo haya sido publicado anteriormente; asumo las consecuencias y sanciones que de mis acciones se deriven, sometiéndome a las acciones legales y administrativas vigentes.</p>

**7. Autorización de Publicación Digital:**

A través de la presente autorizo de manera gratuita a la Universidad Nacional Hermilio Valdizán a publicar la versión digital de este trabajo de investigación en su biblioteca virtual, repositorio institucional y base de datos, por plazo indefinido, consintiendo que con dicha autorización cualquier tercero podrá acceder a dichas paginas de manera gratuita pudiendo revisarla, imprimirla o grabarla siempre y cuando se respete la autoría y sea citada correctamente.

<b>Apellidos y Nombres</b>	TIPIAN TASAYCO MARTIN WILFREDO	<b>Firma</b>	
<b>Apellidos y Nombres</b>		<b>Firma</b>	
<b>Apellidos y Nombres</b>		<b>Firma</b>	

FECHA: Huánuco, 11 de junio del 2024

- Nota:**
- ✓ No modificar los textos preestablecidos, conservar la estructura del documento.
  - ✓ Marque con una X en el recuadro que corresponde.
  - ✓ Llenar este formato de forma digital, con tipo de letra calibri, tamaño de fuente 09, manteniendo la alineación del texto que observa en el modelo, sin errores gramaticales (recuerde las mayúsculas también se tildan si corresponde).
  - ✓ La información que escriba en este formato debe coincidir con la información registrada en los demás archivos y/o formatos que presente, tales como: DNI, Acta de Sustentación, Trabajo de Investigación (PDF), Constancia de Similitud, Reporte de Similitud.
  - ✓ Cada uno de los datos requeridos en este formato, es de carácter obligatorio según corresponda.
  - ✓ Se debe de imprimir, firmar y luego escanear el documento (legible).