

UNIVERSIDAD NACIONAL “HERMILIO VALDIZAN”
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA ACADEMICA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA



**COMPARACIÓN DEL EFECTO ENTRE SOLUCIONES DE
PROPÓLEO, HIDRÓXIDO DE CALCIO Y CLORHEXIDINA AL
2% SOBRE EL ENTEROCOCCUS FAECALIS (Estudio in vitro)**

LIMA-2016

TESISTAS:

- Karelia Katherine, Reyes Bernuy
- Mylushka Maytte Reyes Bernuy

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

HUÁNUCO- PERÚ

2017

**COMPARACIÓN DEL EFECTO ENTRE SOLUCIONES DE PROPÓLEO,
HIDRÓXIDO DE CALCIO Y CLORHEXIDINA AL 2% SOBRE EL
ENTEROCOCCUS FAECALIS (Estudio in vitro)**

LIMA-2016

DEDICATORIA (i)

A nuestros padres, quienes han estado con nosotras en cada paso que damos, brindándonos la fortaleza y apoyo para continuar en todo momento. Por su ejemplo de superación inalcanzable y por su comprensión. Depositándonos su entera confianza en cada reto que nos proponemos, porque sin su apoyo no hubiera sido posible la culminación de nuestra carrera profesional.

AGRADECIMIENTO (ii)

Esta tesis es el fruto de un trabajo continuo, en la cual directa o indirectamente participaron distintas personas, opinando, corrigiendo, dándonos el apoyo necesario para que este estudio llegara a buen puerto.

A Dios, por guiarnos y acompañarnos en cada momento, por ser nuestra fortaleza y llenar nuestras vidas de aprendizaje y mucha felicidad, bendiciéndonos con una gran familia.

A nuestra hermanita, por ser un ejemplo de dedicación y por llenar nuestras vidas de inmensa felicidad.

Al Dr Juan Julián Martínez, especialista en endodoncia Jefe del servicio de Cariología y Endodoncia del Hospital Militar Central, por su tiempo, por sus consejos, su gran sabiduría y ánimo que nos brindó durante la realización de esta investigación.

Al Dr. Elfer Valdivia Paz-Soldan microbiólogo catedrático de la Universidad Científica del Sur y Jefe del servicio de Laboratorio Clínico del Hospital Militar Central LUIS ARIAS SCHREIBER, por su valiosa colaboración en la ejecución de nuestro trabajo de investigación, por su apoyo y facilidad que nos fueron otorgadas en el laboratorio de Microbiología.

A Nuestro asesor Dr, Cesar Gonzales Soto, por su dirección, apoyo y confianza brindada en la elaboración de nuestro proyecto.

RESUMEN (iii)

La presente investigación se realizó con el objetivo de determinar el efecto de la solución de Propóleo, comparándolo con el Hidróxido de Calcio y Clorhexidina al 2% sobre el *Enterococcus Faecalis* en los tratamientos de conductos radiculares. La investigación se desarrolló en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Militar Central- Lima. Para lo cual se dividió el estudio en tres etapas: Obtención del Extracto Etanólico de Propóleo, Siembra y Cultivo de las Cepas en placas de agar Azide y series de bilis esculina y Prueba de la Efectividad Antibacteriana en 15 placas de sensibilidad Muller Hilton sembradas con cepa de *Enterococcus Faecalis* a los cuales se les colocó 4 discos en cada placa Petri, el primer disco contiene Propóleo al 70%, la segunda sustancia que se colocó fue Clorhexidina al 2%, la tercera sustancia en colocar fue Hidróxido de Calcio, y la última sustancia colocada fue el suero fisiológico utilizada como control negativo, posteriormente se colocó en un ambiente anaerobio adecuado para el crecimiento de la bacteria y se llevó a la incubadora a 37° C. La medición de los halos de inhibición formados se registró a las 24h, 48h y 72h. El análisis estadístico se realizó mediante las pruebas de ANOVA y Tukey. Los resultados mostraron que el *Enterococcus Faecalis* fue más sensible al usar el Propóleo que presentó un promedio de diámetro de inhibición sensible de 23 mm, seguido de la Clorhexidina que presentó un promedio de diámetro de inhibición sensible de 21 mm, y del Hidróxido de Calcio que presentó un promedio de diámetro de inhibición resistente de 10 mm. En conclusión se observó que existe mayor sensibilidad al utilizar Propóleo, seguido de la Clorhexidina; en comparación con el Hidróxido de Calcio que mostró halos de inhibición resistente, sobre el *Enterococcus Faecalis*.

Palabras clave: *Extracto Etanólico de Propóleo, Enterococcus Faecalis*

SUMMARY (iv)

The present investigation was carried out with the objective of determining the effect of the Propolis solution, comparing it with Calcium Hydroxide and 2% Chlorhexidine on *Enterococcus faecalis* in root canal treatments. The research was carried out at the Microbiology Laboratory of the Central Military Hospital – Lima. For which the study was divided into three stages: Obtaining the Ethanol Extract of Propolis, Sowing and Cultivation of Strains on Azide agar plates and series of bile esculin and Antibacterial Effectiveness Test on 15 Muller Hilton Sensitivity plates seeded with *Enterococcus faecalis* strain to which 4 discs were placed in each petri plate, the first disc contains Propolis 70%, the second substance to be placed was 2% Chlorhexidine, the third substance to be placed was Calcium Hydroxide , and the last substance placed was the physiological serum used as negative control, subsequently placed in an anaerobic environment suitable for the growth of bacteria and was taken to the incubator at 37 ° C. Measurement of the inhibition halos formed was recorded at 24h, 48h and 72h. Statistical analysis was performed using the ANOVA and Tukey tests. The results showed that *Enterococcus Faecalis* was more sensitive when using the Propolis that presented an average diameter of sensitive inhibition of 23 mm, followed by Chlorhexidine which had average diameter of sensitive inhibition of 21 mm, and of Calcium Hydroxide which had an average inhibition diameter resistant of 10 mm. In conclusion it was observed that there is greater sensitivity when using Propolis, followed by Chlorhexidine in comparison to the calcium hydroxide that showed halos of resistant inhibition, on the *Enterococcus Faecalis*.

Keywords: Propolis Ethanol Extract, *Enterococcus Faecalis*

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTO	ii
RESUMEN.....	iii
SUMARY.....	iv
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPITULO I

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	
1.1 IDENTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	7
1.2 DELIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	9
1.3 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	
PROBLEMA PRINCIPAL.....	10
PROBLEMA ESPECÍFICO.....	10
1.4 FORMULACIÓN DE OBJETIVOS	
OBJETIVO GENERAL.....	11
OBJETIVO ESPECÍFICO.....	11
1.5 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN.....	11
1.6 LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN.....	12

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES DE ESTUDIOS REALIZADOS.....	13
ANTECEDENTES INTERNACIONALES.....	13
ANTECEDENTES NACIONALES.....	19
ANTECEDENTE LOCAL.....	22
2.2 BASES TEÓRICAS Y CIENTÍFICAS.....	23
2.3 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS.....	69
2.4 FORMUALACIÓN DE HIPÓTESIS.....	70
HIPÓTESIS GENERAL.....	70
HIPÓTESIS ESPECÍFICAS.....	70
2.5 IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES.....	71
VARIABLE INDEPENDIENTE.....	71
VARIABLE DEPENDIENTE.....	71
2.6 DEFINICIÓN OPERACIONAL DE VARIABLES, DIMENSIÓN E INDICADORES.....	72

CAPITULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1 NIVEL Y TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	74
3.2 DISEÑO Y MÉTODO DE INVESTIGACIÓN.....	74
3.3 DETERMINACIÓN DE LA POBLACIÓN Y MUESTRA.....	74
3.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	76

3.5 TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO, ANÁLISIS DE DATOS.....	79
3.6 SELECCIÓN Y VALIDACIÓN DE LOS INSTRUMENTOS DE INVESTIGACIÓN.....	80

CAPITULO IV

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS.....	81
---------------------------------	----

CAPITULO V

DISCUSIÓN.....	111
CONCLUSIONES.....	114
SUGERENCIAS Y RECOMENDACIONES.....	116
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	117
ANEXOS.....	126

INTRODUCCIÓN

Desde los primeros inicios la meta de la odontología siempre fue la conservación y preservación de las piezas dentarias naturales frente a los problemas más frecuentes según la organización Mundial de la Salud (caries, enfermedad periodontal y maloclusión), además de traumatismos u otras causas que puedan desencadenar la pérdida de las piezas dentarias.

La falta de dientes perjudica la oclusión, la estética, pero sobre todo puede ocasionar daños en la función temporomandibular. Es por ello que desde tiempos inmemoriales el hombre siempre ha tratado de restaurar y preservar la pieza dentaria en boca a través de diferentes métodos, entre ellos se encuentra la endodoncia.

La historia de la Odontología hace evidente el papel primordial desempeñado por pastas y preparados medicamentosos a la hora de mitigar el dolor dental y desinfectar las cavidades de caries junto al tejido pulpar. Tanto es así que ya 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 dientes¹.

En el período comprendido entre los años 3.700 y 1.500 antes de Cristo, los egipcios usaron diversas sustancias para aliviar el dolor, aplicadas dentro de las cavidades. Para ello emplearon comúnmente la pasta de comino, incienso y cebolla a partes iguales¹.

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 beleño¹.

Ya en la era Cristiana, Claudio Galeno observó cómo trepanando los dientes enfermos e introduciendo posteriormente medicamentos en su interior se conseguía aliviar el dolor¹.

En la actualidad, la terapia endodóntica tiene una alta tasa de éxito dado el avance en técnicas de limpieza y desinfección, pero la diversidad de microorganismos presentes en los conductos radiculares infectados constituyen aún un problema para el clínico, condicionando a fracasos en algunos tratamientos dada su alta resistencia a través de la formación de biofilms como es el caso del *Enterococcus faecalis*².

El *Enterococcus Faecalis* también ha demostrado ser capaz de formar comunidades microbianas adheridas a superficies o “biofilm”³.

El biofilm puede ser definido como comunidades de microorganismos adheridos a una superficie y embebidos en una matriz de polisacáridos y proteínas formando una capa viscosa³.

Algunas investigaciones han demostrado la presencia de biofilms de E. f en el sistema de conductos radiculares de dientes extraídos. La formación de biofilms por parte del E. f constituye una evidencia contundente de que éste puede colonizar los conductos radiculares. Cuando esta especie crece en biofilms, puede ser hasta mil veces más resistente a la acción de los antimicrobianos que cuando se haya como bacteria planctónica (suspendida en medio líquido y no adherido a ninguna superficie)³.

Si la formación de biofilms que contienen E. f ocurre in vivo, se podría considerar como un mecanismo para resistir un tratamiento antimicrobiano³.

Las investigaciones microbiológicas de los últimos años demuestran que en fracasos endodónticos hay una mayor prevalencia de E. faecalis por contaminación primaria, organismo que es muy resistente en medios alcalinos².

El Enterococcus faecalis (E. f) es un coco gram positivo, que puede aparecer solo, en pares o en cadenas³.

Es un microorganismo anaerobio facultativo y su crecimiento óptimo ocurre a 37° C, sin embargo también se ha observado crecimiento entre 10 y 45 °C³.

Los Enterococcus faecalis, han llamado la atención de la literatura endodóntica, ya que con frecuencia se pueden aislar en los conductos radiculares donde el tratamiento endodóntico ha fracasado. Además, también se pueden encontrar en los conductos radiculares asociados a periodontitis apical resistente a la terapia endodóntica³.

En consecuencia, durante el tratamiento de conductos radiculares, es aconsejable la colocación de un relleno temporal, que este en contacto directo con las paredes del conducto radicular, para minimizar el riesgo de proliferación bacteriana⁴.

En lo que respecta a la medicación intraconducto, en la literatura odontológica se conoce también como medicación entre sesiones o medicación local. Es la colocación de un fármaco en el interior de la cavidad pulpar entre las sesiones, necesario para la conclusión del tratamiento endodóntico. Tiene por finalidad hacer que el sistema de conductos radiculares con pulpa necrosada e infectada sea un medio

impropio para el desarrollo bacteriano; inhibiendo y/o destruyendo los microorganismos que escaparon a la acción de la preparación biomecánica, especialmente los que se albergan en las ramificaciones laterales, en los canalículos dentinarios, en los deltas y en los “nichos” de los cráteres resultantes de la erosión apical⁵.

Las razones para utilizar medicamentos intraconductos son: eliminar bacterias del conducto radicular, actuar como barrera fisicoquímica y disminuir los nutrientes necesarios para la proliferación bacteriana⁴.

La clorhexidina al 2% se ha empleado como medicación intraconducto con buenos resultados antibacterianos in vitro. Y muestra una actividad incluso superior a la del hidróxido de calcio o a la del paramonoclorofenol alcanforado. Distintos estudios muestran que la concentración idónea es del 2% ya que concentraciones inferiores se mostraron poco eficaces. Schafer y Bossmann y Sirén y cols. Hallaron que la clorhexidina al 2 % era más eficaz que la mezcla de hidróxido de calcio con paramonoclorofenol alcanforado frente a *Enterococcus faecalis*. La medicación intraconducto con clorhexidina no afecta al sellado apical del conducto radicular⁶.

El hidróxido de calcio se presenta como un polvo de color blanco, con un pH alrededor de 12.5, insoluble en alcohol y escasamente soluble en agua. Esta propiedad representa una ventaja clínica ya que, cuando se pone en contacto con los tejidos del organismo, se solubiliza en ellos de forma lenta⁶. Fue introducida en la endodoncia por Hermann en 1920 con la intención de favorecer los procesos de curación, ya que sus principales efectos son su actividad antibacteriana y su capacidad para favorecer la aposición de tejidos calcificados⁶.

Ya que en el Perú el arsenal terapéutico del reino vegetal es incalculable y magno. Los productos naturales aportan una gran cantidad de compuestos con carácter antimicrobiano, antiinflamatorio, antiviral, antihemorrágico, entre otros estas sustancias pueden ser utilizadas directamente como base para la síntesis de nuevos principios útiles y diversos tratamientos a nivel de la cavidad oral⁷.

Por ello resulta importante que los estomatólogos hagan una apropiación definitiva de los conocimientos sobre Medicina Natural Tradicional, de manera que su práctica asistencial se encuentre enriquecida con conductas terapéuticas integrales, favorecedoras de la mejor calidad de vida en los pacientes⁸.

La probada efectividad de la Medicina Natural y Tradicional en pacientes que acuden a los servicios de salud, ha extendido su uso durante las últimas décadas sobre todo en países de América Latina, estimulando así su desarrollo⁸.

El propóleo es uno de los productos de las abejas de mayor importancia para el hombre, por sus propiedades y usos en el tratamiento de diversas enfermedades⁹.

Gracias a que la riqueza de sus componentes le confiere propiedades antibacterianas, antivirales, antifúngicas, antiinflamatorias, analgésicas y cicatrizantes, los preparados a base de propóleos tienen una amplia gama de aplicaciones en diversas especialidades de la odontología⁹.

La actividad antimicrobiana atribuida al propóleos frente al *Enterococcus* sp, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococo mutans* es de especial importancia en la práctica clínica odontológica por su potencial efecto anticariogénico¹⁰.

Desde el punto de vista endodóntico, el propóleo se ha utilizado para irrigar y medicar los conductos, por su potencial efecto antimicrobiano atribuido al contenido en flavonoides y compuestos aromáticos⁹.

Este estudio tuvo como objetivo determinar el efecto de la solución de Propóleo, Hidróxido de Calcio y Clorhexidina al 2% sobre el *Enterococcus Faecalis*, como alternativa natural que aporte grandes beneficios antibacterianos en el campo odontológico.

CAPÍTULO I.

PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

1.1 Identificación y planteamiento del problema.

El tratamiento endodóntico tiene como objetivo lograr un canal desinfectado y sellado tridimensionalmente para prevenir su contaminación. La compleja anatomía del sistema de canales impide que el tejido orgánico e inorgánico residual, y las bacterias que pudieran estar alojadas en ellos, puedan ser completamente eliminados, por lo que usualmente persisten¹¹.

Variadas terapias antimicrobianas se han recomendado para eliminar los microorganismos desde los canales radiculares, incluyendo la instrumentación del canal radicular y el uso de diferentes irrigantes, apósitos intracanales y sellantes coronarios. El éxito del tratamiento antiinfeccioso endodóntico se asocia directamente con el control de microorganismos y la disrupción del biofilm bacteriano. La medicación del canal es la aplicación de un fármaco en el interior de la cavidad pulpar necesaria para eliminar la infección¹¹.

El uso de medicación intraconducto, tiene acción antimicrobiana, neutralizante de tejidos necróticos, antiinflamatoria y de barrera física con el sellado de los materiales restauradores provisionales, impide la entrada de bacterias y posterior contaminación del conducto radicular entre sesiones clínicas¹².

Se puede decir que la medicación intraconducto será entonces un complemento valioso en cuanto a la desinfección del sistema de conductos radiculares, especialmente en lugares inaccesibles a la instrumentación, como son las ramificaciones del conducto principal y los túbulos dentinarios¹³.

Han existido numerosos debates entre el uso del más idóneo y efectivo agente bactericida en el campo de la endodoncia. El control de las poblaciones alojadas en el interior del conducto radicular se vuelve importante y decisiva para presagiar el éxito operatorio que se busca a través de un tratamiento de conducto¹⁴.

Se ha demostrado que el Ca (OH)₂ actúa por disociación iónica y que su efecto antimicrobiano se debe a su elevado pH (12.8) y a la liberación de iones hidroxilo¹⁵.

Su aplicación clínica se incluye en la desinfección del canal radicular, en la inducción de la respuesta de la calcificación y la promoción de apexificación. Por poseer actividad antimicrobiana, se ha recomendado como un medicamento intracanal entre sesiones para eliminar los microorganismos persistentes, especialmente en los dientes con necrosis de la pulpa y la pérdida ósea perirradicular¹⁶.

La clorhexidina es un antiséptico muy potente ya que este compuesto es una base fuerte y dicatiónica a niveles de pH más de 3.5 con dos cargas positivas en cada extremo del puente de hexametileno¹⁷. Es uno de los antisépticos más utilizados debido a sus ventajas: presenta un amplio espectro, ataca múltiples sitios a nivel celular, por lo que la resistencia de los microorganismos es menor; es bacteriostática a bajas concentraciones y a altas concentraciones es bactericida para microorganismos Gram positivos y Gram negativos con una mayor actividad para los primeros, además posee una propiedad única que se llama sustantividad, la cual le permite tener una acción antimicrobiana residual¹⁸.

El propóleo es una sustancia embalsamadora, responsable de la baja incidencia de bacterias dentro de la colmena. La actividad antimicrobiana de este compuesto es más activo contra bacterias Gram positivas que contra bacterias Gram negativas; sin

embargo se ha demostrado su carácter inhibitorio en microorganismos bucales Gram negativos involucrados en procesos cariogénicos y periodontopatógenos como *Streptococcus mutans*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Porphyromonas gingivalis*, e incluso en levaduras como *Candida albicans*¹⁹.

En consideración a la importancia para eliminar los microorganismos de los conductos dentarios y tomando en cuenta que el *Enterococcus faecalis* es causa frecuente de infección del sistema de conductos radiculares en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico, surge la necesidad de buscar otra alternativa de tratamiento como un producto natural que los elimine, para lo cual se realizó un estudio in vitro para comparar el efecto propuesto tomando muestras de conductos dentarios.

1.2 Delimitación de la Investigación

En la cavidad bucal existen aproximadamente 1010 bacterias, con más de 700 diferentes especies de bacterias, las que buscan un nicho de nutrición; una de las funciones primarias del esmalte es proteger de esos microorganismos al complejo dentinopulpar. Cuando hay caries o trauma oclusal se abre un camino para la penetración bacteriana a través de los túbulos, todas las bacterias de la cavidad bucal tienen la oportunidad de invadir el espacio del conducto radicular, se ha identificado a un grupo en los conductos infectados²⁰.

Se ha mencionado que en los fracasos endodónticos predominan anaerobios facultativos y gram positivos, siendo *E. faecalis* la especie que predomina²¹.

La medicación intraconducto juega un papel importante en la endodoncia y tiene como objetivo principal inhibir la proliferación de bacterias. Se debe considerar el diagnóstico clínico para la selección de una correcta medicación intraconducto ya que muchos pueden ser nocivos para la salud y podrían originar una posible irritación y pérdida de los tejidos dentarios⁶.

La presente investigación busco emplear extractos naturales a base de propóleo, para lo cual se realizó un estudio in vitro que nos permitió medir halos de inhibición, con lo que se demostró el efecto sobre el *Enterococcus Faecalis* que en antecedentes demostraron tener eficacia antimicrobiana sobre bacterias orales; ya que presenta propiedades antibacterianas , fungicidas, analgésicas, anti-inflamatorias y entre otras.

1.3 Formulación del problema

1.3.1. Problema Principal

¿Cuál es el efecto del Propóleo, Hidróxido de Calcio y Clorhexidina al 2% sobre el *Enterococcus Faecalis*, realizado en el Hospital Militar Central Coronel Luis Arias Schreiber; Lima-2016?

1.3.2. Problemas Específicos

- ¿Cuál será el diámetro del halo de inhibición de la solución de Propóleo sobre el *Enterococcus Faecalis*?
- ¿Cuál será el diámetro de halo de inhibición del hidróxido de calcio sobre el *Enterococcus Faecalis*?
- ¿Cuál será el diámetro de halo de inhibición de la Clorhexidina al 2% sobre el *Enterococcus Faecalis*?

1.4 Formulación de objetivos

1.4.1. Objetivo General

Determinar el efecto de la solución de Propóleo, Hidróxido de Calcio y Clorhexidina al 2% sobre el *Enterococcus Faecalis*, realizado en el Hospital Militar Central Coronel Luis Arias Schreiber; Lima-2016.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Medir el diámetro de halo de inhibición de la solución de Propóleo sobre el *Enterococcus Faecalis*.
- Medir el diámetro de halo de inhibición del Hidróxido de Calcio sobre el *Enterococcus Faecalis*.
- Medir el diámetro de halo de inhibición de la Clorhexidina al 2% sobre el *Enterococcus Faecalis*.

1.5 Justificación e importancia de la investigación

Durante el manejo odontológico, la mayor parte de las patologías endodónticas se vinculan con la presencia de bacterias. Los túbulos dentinarios sirven como ruta para la penetración de bacterias y toxinas en el interior de los conductos radiculares. Cuando la pulpa se torna necrótica alberga millones de bacterias²².

Las razones para utilizar medicamento intraconducto son las de eliminar bacterias, actuar como barrera fisicoquímica y disminuir los nutrientes necesarios para la proliferación bacteriana⁴.

La medicación intraconductos en procesos necróticos es fundamental para la eliminación de la carga bacteriana dentro del conducto y a nivel del periapice. Y estos a la vez no deben producir daño a los tejidos periapicales²³.

La importancia del estudio se enfocó en determinar la evaluación de eficiencia antibacteriana del Propóleo, generando un conocimiento actualizado y pertinente que permita al odontólogo identificar las sustancias que mejor resultados le proveerá, y por ende lograr la satisfacción de sus pacientes y un mejor pronóstico para este tipo de tratamiento²⁴.

Se realizará el presente trabajo de investigación por:

Relevancia Clínica:

El presente trabajo mostro la acción antibacteriana que tiene el extracto de propóleo (Propolis de *Apis Mellifera*) sobre el *Enterococcus faecalis*, dicho trabajo se justifica ya que tiene la finalidad de demostrar posteriormente que su uso puede lograr buenos resultados en la práctica clínica, para disminuir así el uso de soluciones químicas y proponer en el futuro una alternativa natural en el campo odontológico, por sus beneficios terapéuticos.

1.6 Limitación de la investigación

- Escasa información del propóleo sobre estudios en su uso endodóntico.
- Limitado conocimiento por parte de los profesionales acerca del propóleo y sus propiedades en el tratamiento de conductos.
- Mantenimiento de la cepa del *Enterococcus Faecalis*, que debido a sus características fisiológicas es complicado mantenerlas viables durante mucho tiempo, pero lo logramos aplicando la técnica de resiembra continua.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de estudios realizados:

2.1.1 Antecedentes Internacionales

Gonzalón L. (Ecuador 2015). Estudio comparativo in vitro del efecto antibacteriano como medicamento intraconducto entre el hidróxido de calcio y el extracto de propóleo sobre el *Enterococcus faecalis*²⁵.

Determinar el efecto antibacteriano del extracto del Propóleo en comparación con el hidróxido de calcio en cultivo in vitro del *Enterococcus faecalis* como medicamento intraconducto.

Se procedió a colocar discos de papel filtro impregnados las sustancias Hidróxido de calcio medicamento intraconducto y el extracto de propóleo al 10% y 20% medicamento natural en medios de cultivo Mueller Hinton en los que previamente se inoculo al *Enterococcus f. ATCC 29212*; posteriormente los medios de cultivos fueron incubados por 24horas a 37°C. Las lecturas de los halos de inhibición se recolectaron en tablas pre elaboradas y analizados por programas estadísticos con las pruebas de ANOVA y TUKEY.

Los resultados fueron el extracto de propóleo al 10% obtuvo un promedio de 14.8mm siendo el más efectivo contra el *Enterococcus F.*, extracto de propóleo al 20% una media de 12.4mm y el hidróxido de calcio con 8,7mm.

Aguirre N. (Ecuador 2015). Acción antimicrobiana para inhibir el *Enterococcus faecalis*: análisis in vitro de dos medicamentos de uso externo, paramonoclorofenol y propóleo²¹.

El objetivo es determinar la efectividad antimicrobiana in vitro del Paramonoclorofenol alcanforado y Propóleo sobre *Enterococcus faecalis*.

Se realizó un estudio in vitro en donde se comparó la medición de los halos de inhibición del paramonoclorofenol y el extracto de propóleo de origen natural sobre una cepa pura de *Enterococcus faecalis* líquida.

En resultados se observó que las dos sustancias tuvieron acción antimicrobiana con una diferencia no significativa entre los promedios de halos ante el *Enterococcus faecalis*.

Pimenta H. Violante I. Musis C. Borges A. Aranha A. (Brasil 2014). Efectividad in vitro del propóleo marrón brasileiro sobre el *Enterococcus faecalis*²⁶.

El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana in vitro del propóleo brasileño marrón como un medicamento intracanal contra *Enterococcus faecalis*.

Treinta túbulos de dentina de incisivos centrales superiores de la especie bovina recién extraídos fueron infectados con *E. faecalis* durante 21 días. Las muestras se distribuyeron en seis grupos de acuerdo con el medicamento utilizado de la siguiente manera: G1- pasta de hidróxido de calcio; G2- Carbowax 400 (grupo de control); G3- pasta de propóleo marrón al 20 %; G4- pasta de propóleo marrón al 40 %; G5- pasta de propóleo marrón al 20 % + pasta de hidróxido de calcio; G6- - pasta de propóleo marrón al 40 % + pasta de hidróxido de calcio. Las pastas experimentales se colocaron en el interior del canal y se dejaron durante 14 días. Después de cada período, la irrigación se llevó

a cabo con solución salina estéril para eliminar el medicamento, y los canales se secaron con puntas de papel estéril. Las virutas de dentina fueron retiradas de los canales con fresas redondas estériles secuenciales a baja velocidad y se recogieron inmediatamente en tubos de ensayo separados que contienen caldo BHI (Brain Heart Infusion). Los tubos se incubaron a 37 ° C, y el crecimiento microbiano se analizó por espectrofotometría después de 15 días.

Los resultados mostraron que todos los medicamentos experimentales redujeron significativamente el número de bacterias viables. Las pastas G4 y G5 fueron más eficaces que la pasta G1, con 35,8%, 41% y 21,3% de actividad antibacteriana, respectivamente. El propóleo marrón brasileño muestra capacidad antibacteriana contra *E. faecalis*.

Sonam B. Ashwini T. (India 2014). Evaluación in vitro de la eficacia antimicrobiana del gel de Clorhexidina al 2%, Propóleo e Hidróxido de calcio sobre *Enterococcus Faecalis* en la dentina radicular²⁷.

El objetivo es evaluar la eficacia antimicrobiana in vitro del gel de Clorhexidina al 2%, el Propóleo y el Hidróxido de calcio frente a *Enterococcus faecalis* en la dentina radicular humana.

Ciento veinte dientes anteriores extraídos fueron cortados por debajo de la unión cemento esmalte, y se les retiró la parte apical de la raíz para obtener 6 mm de raíz. Se utilizó fresas Gates Glidden número 3 para estandarizar el diámetro interno del conducto radicular. Los bloques de dentina fueron infectados con *E. faecalis* por 21 días. Se les asignó en cuatro grupos (n = 30). Grupo 1, solución salina (control negativo); Grupo 2, propóleos; Grupo 3, Clorhexidina al 2%; Grupo 4, hidróxido de

calcio, Al final del 1°, 3°, y 5° día se realizó una evaluación de células microbianas a una profundidad de 400 micras y se calcularon los recuentos de colonias. Los datos fueron analizados estadísticamente con análisis de varianza unidireccional seguido por prueba de comparación múltiple de Scheffe ($p < 0,05$).

Los resultados muestran que el número de unidades formadoras de colonias fue significativamente inferior en todos los grupos experimentales en comparación con el grupo de control - solución salina. El Gel de Clorhexidina al 2 % producía mejor eficacia antimicrobiana (100 %) en el día 1°, 3° y 5°. El propóleo (66,37 %) tuvo mayor actividad antimicrobiana que el hidróxido de calcio (50,89 %) en el día 1, pero no hubo diferencia significativa en sus actividades antimicrobianas en el día 3 y 5.

Kim D. Kim E. (Korea 2014). Estudio in vitro del efecto antimicrobiano del hidróxido de calcio como medicamento intracanal en el conducto radicular²⁸.

El objetivo del tratamiento de endodoncia es la prevención y control de infecciones pulpaes y periapicales.

El hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) ha sido ampliamente utilizado en endodoncia como un medicamento intracanal para eliminar los microorganismos restantes después de la preparación quimio-mecánica. El propósito de este artículo es revisar las propiedades antimicrobianas de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ como un medicamento intracanal en el tratamiento de conducto. La primera parte de este estudio se detallan las características de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y se resumen los resultados de los estudios in vitro relacionados con su efecto antimicrobiano. El efecto antimicrobiano de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ resulta de la liberación de iones hidroxilo cuando entra en contacto con fluidos acuosos.

El resultado muestra $\text{Ca}(\text{OH})_2$ tiene una amplia gama de efectos antimicrobianos contra patógenos endodónticos comunes, pero es menos eficaz contra *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*. La adición de vehículos u otros agentes puede contribuir al efecto antimicrobiano de $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

Carrillo M. Castillo L. Mauricio R. (México 2011). Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de propóleos de la huasteca potosina (México)²⁹.

El objetivo es evaluar la actividad antibacteriana del propóleo al usar solventes etanólicos o acuosos y analizar el efecto que tienen la procedencia y el tipo de extracto sobre el crecimiento de bacterias Gram negativas y Gram positivas.

Se realizó un estudio para lo cual se usaron cuatro muestras de propóleo de apiarios localizados en la Huasteca Potosina: Ejido Laguna del Mante, Los Sabinos, La Loma y Tamazunchale. La evaluación del efecto antibacteriano de los diferentes extractos sobre las especies bacterianas, se realizó mediante el método de dilución en tubo. Y los resultados demostraron que los extractos etanólicos tienen mayor efectividad antibacteriana frente a los extractos acuosos de Propóleo. El análisis de regresión múltiple mostró que tanto la procedencia del propóleo y el tipo de extracto utilizado, afectan la concentración mínima bacteriana (CMB) del propóleo.

Monardes H. (Chile 2009). Presencia de *Enterococcus Faecalis* en conductos radiculares infectados y su susceptibilidad frente a irrigantes y medicamentos de uso endodóntico³⁰.

El objetivo es conocer la sensibilidad o resistencia de *Enterococcus faecalis* frente a los diversos agentes antimicrobianos utilizados durante la terapia endodóntica, hipoclorito de sodio, agua oxigenada, clorhexidina, hidróxido de calcio, paramonoclorofenol, formocresol y yodoformo, además de incluir un compuesto que está en estudio como es el propóleo, un biocida natural.

Se seleccionaron pacientes con diagnóstico de necrosis pulpar abierta y periodontitis apical, que permanecieron sin tratamiento antibiótico durante los últimos tres meses, a los cuales se tomó una muestra del interior del conducto radicular que se sembró en placas de agar sangre e incubó a 37°C por 24 horas. Luego de verificado el crecimiento bacteriano compatible con *E. faecalis* se incubaron por 24 horas a 37°C en medios selectivos para este microorganismo, Bilis esculina y Cloruro de Sodio 6,5%, para poder identificarlos y conservarlos a -10°C.

Finalmente se determinó la resistencia o susceptibilidad a los diferentes antimicrobianos por medio del test de difusión en agar. De acuerdo a los resultados obtenidos en esta investigación, es posible asegurar que clorhexidina es efectiva frente a *E. faecalis* independientemente de su concentración, en comparación con los demás agentes antimicrobianos que muestran valores de efectividad menores, por lo que el tratamiento de conductos de dientes infectados debe incorporar clorhexidina como irrigación durante la instrumentación y como medicación intraconductos, más aun en aquellos casos que se manifiestan como fracasos o refractarios al tratamiento.

2.1.2 Antecedentes Nacionales

Alvarez M. (Trujillo 2014). Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de propolis de *Apis mellífera* (propóleo) frente a *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212³¹.

La presente investigación tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de Propolis de *Apis mellífera* “propóleo” frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

El estudio se desarrolló en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo. La muestra estuvo constituida por 80 placas petri, teniendo 5 grupos de 16 placas, más un grupo control, conteniendo el medio Müller Hinton respectivamente con el extracto etanólico de Propolis de *Apis mellífera* “Propóleo” y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. El efecto antibacteriano se determinó a través de la concentración mínima bacteriana (CMB), y la susceptibilidad bacteriana.

El extracto etanólico de Propolis de *Apis mellífera* “Propóleo” presenta efecto antibacteriano in vitro frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Los resultados nos permiten concluir que el extracto etanólico de Propolis de *Apis mellífera* “Propóleo” posee efecto antibacteriano in vitro frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, siendo la diferencia estadísticamente significativa entre la concentración al 25% con 75% ($p=0.024$) y 25% con 100% ($p=0.025$), más no con la concentración al 50%. En la susceptibilidad bacteriana se encontró diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones al 25% con las otras tres concentraciones evaluadas, más no se observaron diferencias entre estas últimas.

Reyes D. (Trujillo 2011). Concentración mínima inhibitoria del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo sobre *Enterococcus Faecalis*³².

El objetivo del presente estudio fue determinar la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de propóleo sobre el *Enterococcus faecalis*.

El estudio se realizó utilizando siete concentraciones del extracto etanólico de propóleo de 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% y 90%, el tamaño de la muestra estuvo conformada por 70 observaciones para la concentración mínima inhibitoria y 70 observaciones más para la prueba de susceptibilidad. El estudio estuvo dividido en dos etapas : primero en la obtención del extracto etanólico de propóleo durante dos semanas; y, el procesamiento microbiológico, donde cada concentración fue puesta en contacto con el microorganismo de estudio, determinándose así el efecto del crecimiento del *Enterococcus faecalis*.

Los resultados mostraron la formación de halos de inhibición de: siendo el más efectivo el extracto de propóleo al 90 % (de 8 a 10mm). En las UFC se observó que cuanto mayor es la concentración del extracto mayor es el efecto antibacteriano.

Carbajal J. (Cerro de Pasco 2010). Evaluación in vitro de la viabilidad de *Enterococcus Faecalis* y *Candida Albicans* en los túbulos dentinarios después de la aplicación de hidróxido de calcio, clorhexidina al 2% y extracto etanólico de propóleo al 0,8%, HMC-lima 2009-2010³³.

El objetivo es evaluar la viabilidad de *E. faecalis* y *C. albicans* en los túbulos dentinarios después de la aplicación de hidróxido de calcio, clorhexidina al 2% y

extracto etanólico de propóleo al 0,8% a dos diferentes profundidades dentinarias (100µm y 200 µm) después de 14 días de aplicación.

Ciento veinte raíces de dientes humanos extraídos se dividieron en dos grupos (n=60) para infectarlos con *E. faecalis* y *C. albicans* respectivamente por 21 días. Luego, se formaron 8 grupos (n=15) para la aplicación de solución salina (control negativo), hidróxido de calcio, clorhexidina al 2% y extracto etanólico de propóleo al 0,8% durante 14 días. Transcurrido el tiempo, se tomaron muestras de dentina radicular cortada en una extensión de 0-100 µm y de 100-200 µm y luego se sembraron en los medios de cultivo adecuados. Después de 24 horas de incubación se procedió al recuento de UFC. Los valores fueron analizados a través de estadística descriptiva y la prueba de Kruskal-Wallis seguido de la prueba de Dunn para la comparación de grupos individuales ($p < 0.05$). *E. faecalis* mostró una mayor capacidad de penetración intratubular en comparación a *C. albicans*. Independiente de la medicación empleada y de la profundidad dentinaria evaluada, la aplicación de medicación intracanal redujo la viabilidad microbiana con respecto al grupo control (suero fisiológico); excepto para *C. albicans* donde sólo clorhexidina tuvo mejor desempeño.

Los resultados muestran que la clorhexidina al 2% demostró gran capacidad para reducir la viabilidad de *E. faecalis* y *C. albicans*. El extracto etanólico de propóleo al 0,8% fue muy efectivo en la eliminación del *E. faecalis*, mientras que *C. albicans* demostró resistencia. En ambos casos el hidróxido de calcio presentó los peores resultados.

2.1.3 Antecedente Local

Solórzano D. (Huánuco 2011). Estudio comparativo in vitro sobre el efecto antibacteriano del extracto de propóleo, paramonoclorofenol alcanforado e hidróxido de calcio en necrosis pulpar³⁴.

El objetivo es determinar el efecto antibacteriano del Extracto de Propóleo en comparación al Paramonoclorofenol Alcanforado e Hidróxido de Calcio en piezas dentales con diagnóstico de Necrosis Pulpar de pacientes que acuden al Centro de Salud Potracancha - Class Pillco Marca de Cayhuayna. Huánuco. Enero - Marzo del 2011.

La muestra estuvo conformada por 32 piezas dentales de pacientes con indicación de exodoncia, con diagnóstico de necrosis pulpar, que acudieron al Servicio de Odontología del Centro de Salud Potracancha - Class Pillco Marca de Cayhuayna. Huánuco, entre los meses de enero a marzo del 2011.

Se realizó la obtención de la muestra, su incubación y siembra, Se seleccionaron cuatro tipos de bacterias entre Gram positivos y Gram negativos, luego de ser seleccionadas las bacterias, estas fueron cultivadas por 48 horas para su enriquecimiento. A continuación se colocaron los discos de papel filtro, posteriormente fueron nuevamente incubadas a 37°C. Las lecturas de las placas fueron realizadas a las 24h, 72h y a los 7 días. Se midieron los halos de inhibición de desarrollo.

De los resultados se obtiene que a las 24 horas el Hidróxido de Calcio obtuvo un mayor nivel de sensibilidad en comparación al del Extracto Acuoso de Propóleo y al PMCF

Alcanforado, que muestra una menor proporción. También concluimos, que a las 72 horas el nivel de sensibilidad del Extracto Acuoso de Propóleo, fue mayor que del Hidróxido de Calcio y el PMCF alcanforado, que sigue mostrando menor nivel de sensibilidad en comparación a los dos medicamentos, aunque mostró un ligero incremento (25% a 31.3%). A los 7 días todos los medicamentos incrementaron su nivel de sensibilidad, con el orden de frecuencia, es decir, el Hidróxido de Calcio en primer lugar, el Extracto Acuoso de Propóleo y finalmente el PMCF Alcanforado.

2.2 Bases teóricas y científicas

COMPOSICIÓN DE LA MICROBIOTA ENDODÓNTICA³⁵

Estudios basados en cultivos microbiológicos han permitido conocer los distintos microorganismos patógenos endodónticos. La aparición de las técnicas de biología molecular que no dependen de los cultivos ha confirmado los hallazgos de los estudios basados en cultivos, y ha entregado información adicional sobre la microbiota asociada a los diferentes tipos de infecciones endodónticas³⁵.

Los microorganismos aislados más frecuentemente en infecciones de pulpa vital según Liébana (2002) son³⁵:

- *Staphylococcus aureus*
- *Streptococos* orales
- *Peptostreptococcus* spp.
- *Actinomyces* spp.
- *Eubacterium* spp.

- *Capnocytophaga* spp.
- *Campylobacter* spp.
- *Eikenella* spp.
- *Porphyromonas* spp.
- *Prevotella* spp.
- *Mitsuokella* spp.
- *Selenomonas* spp.
- *Lactobacillus* spp.
- *Enterococcus* spp.
- *Treponemas* orales

Se ha postulado que la probabilidad de que aparezcan síntomas aumenta cuando determinadas especies bacterianas forman parte de la microbiota endodóntica infecciosa. Sin embargo, las mismas especies pueden encontrarse en casos sintomáticos o asintomáticos, por lo que también influiría la diferencia de virulencia entre cepas de la misma especie, el número de especies presentes y las interacciones entre ellas, la carga bacteriana o número de células bacterianas y los factores ambientales³⁵.

La infección de la pulpa necrótica se puede producir por las mismas vías que la pulpa vital, pero la extensión de la infección es incontrolable ya que los mecanismos de defensa del hospedero son incompetentes. Normalmente al inicio de la necrosis pulpar se aísla un promedio de seis especies bacterianas, mientras que en la infección exacerbada pueden aislarse entre 12 y 15, predominando especies de los géneros

Porphyromonas y Prevotella (Liébana, 2002). En la tabla se muestran las bacterias aisladas más frecuentemente en pulpa necrótica³⁵.

Anaerobios Estrictos	Género	Especies
Bacilos Gramnegativos	Porphyromonas	P. Gingivalis
		P. Endodontalis
	Prevotella	P Oris
		P. Buccae
		P. Intermedia
		P. Melaninogenica
		P. Nigrescens
	Mitsuokella	M. Dentalis
	Fusobacterium	F. Nucleatum
SElenomonas	S. Sputigena	
Bacilos Grampositivos	Eubacterium	E. Lentum
Cocos Gramnegativos	Peptostreptococcus	P. Micros
		P. Anaerobius
		P. Prevotii
		P. Asaccharolyticus
		P. Magnus
Cocos Grampositivos	Veillonella	V. Parvula
Espiroquetas	Treponema	T. Denticola

Anaerobios facultativos	Género	Especies
Cocos Grampositivos	Streptococcus	S. Mitis
		S. Anginosus
		S. Oralis
		S. Intermedius
	Enterococcus	E. Faecalis
		E. Faecium
	Staphylococcus	S. Aureus
	S. Epidermidis	
Bacilos Gramnegativos	Campylobacter	C. Rectus
	Eikenella	D. Corrodens
	Capnocytophaga	A. Ochracea
Bacilos Grampositivos	Lactobacillus	L. Acidophilus
		L. Casei
		L. Fermentum
	Actinomyces	A. Odontolyticus
		A. Naeslundii
		A. Israelii
		A. Meyeri

Los microorganismos persistentes en dientes tratados endodónticamente pueden ser persistentes que han sobrevivido a la desinfección intrarradicular y ya estaban ahí al momento de la obturación radicular, o pueden haber infectado el

conducto tras su obturación como consecuencia de una filtración coronal. El riesgo de fracaso de un tratamiento aumenta al haber microorganismos en el conducto en el momento de la obturación³⁵.

El *E. faecalis* es un coco grampositivo anaerobio facultativo que se encuentra en el 30% a 90% de los dientes tratados endodónticamente. La probabilidad de que se encuentre *E. faecalis* en un diente endodonciado es nueve veces mayor que en un diente con infecciones primarias³⁵.

Tanto *E. faecalis* como *C. albicans* tienen una serie de atributos que les permiten sobrevivir en los conductos tratados, como la resistencia a los fármacos intraconducto (Hidróxido de Calcio), y la capacidad para formar biopelículas, invadir los túbulos dentinarios y soportar largos periodos de privación de nutrientes³⁵.

ENTEROCOCCUS FAECALIS³⁶

Enterococcus son bacterias grampositivas que habitan en el interior del tracto gastrointestinal de una variedad de organismos, incluyendo al hombre. Pueden encontrarse también en el tracto genitourinario y en la saliva. Han sido identificados como patógenos oportunistas para los humanos, pudiendo causar diferentes enfermedades dentro de las que se encuentran las endocarditis, bacteriemias enterocócicas, infecciones del tracto urinario, neonatales, del sistema nervioso central (aunque son raras), intrabdominal y pélvica.

En la última década, estos organismos han adquirido cada vez más importancia como patógenos nosocomiales, a pesar de su baja virulencia.

CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL ENTEROCOCCUS FAECALIS³⁶

Antiguamente los *Enterococcus* pertenecían, clásicamente, a los *Streptococcus* grupo D de Lancefield. En el año 1970 fueron oficialmente clasificados por Kalina como un género independiente. A partir de esta fecha el género *Enterococcus* es considerado un género separado del género *Streptococcus*. La división de los géneros se basó en estudios taxonómicos y de ácidos nucleicos que demostraron su relación distante con *Streptococcus* y que permitieron considerarlos géneros diferentes.

Enterococcus son células esféricas u ovoides, de tamaño $0,6-2,0 \times 0,6-2,5 \mu\text{m}$. Son cocos grampositivos, no formadores de endosporas. Se presentan en forma de pares o de cadenas cortas. Son no móviles, con excepción de las especies *E. gallinarum* y *E. casseliflavus*. Son anaerobios facultativos, quimiorganotrofos, con metabolismo fermentativo. Fermentan un amplio rango de carbohidratos con producción principalmente de L (+)- ácido láctico, pero no de gas, y producen un pH final de 4,2-4,6. Presentan requerimientos nutricionales complejos. Son catalasa negativos o, más comúnmente, débilmente positivos. Crecen usualmente en un caldo de cultivo a 10 °C y 45 °C, aunque el crecimiento óptimo es a 37 °C. Pueden crecer a pH 9,6, con 6,5 % de NaCl y con 40 % de bilis. Usualmente fermentan la lactosa. Portan el antígeno D del grupo Lancefield. Sobreviven después del calentamiento a 60 °C durante 30 min.

Todas las especies de *Enterococcus* son capaces de crecer en presencia de 40 % de bilis y de hidrolizar la esculina, al igual que *Streptococcus* del grupo D, pero se

diferencian de estos últimos porque muestran una respuesta positiva a la prueba de PYR (L-pirrolindonil β -naltil-amida) ³⁴. Todas las cepas producen leucino-aminopeptidasa (LAP), por lo que son positivas a esta prueba¹².

Las colonias en los medios agarizados, generalmente, se presentan incoloras a grises, que tienen de 2-3 mm de diámetro a los 2 días de incubación. Los Enterococcus pueden presentar hemólisis de tipo α , β o pueden ser no hemolíticos²³.

Una misma cepa puede variar en sus propiedades hemolíticas en dependencia del animal del cual provenga la sangre empleada en el medio de cultivo²³.

La capacidad de Enterococcus para crecer en un caldo que contenga 6,5 % de cloruro de sodio, su poder de sobrevivencia después del calentamiento a 60 °C durante 30 min y su habilidad para crecer en un caldo de cultivo a 10 °C y a 45 °C, son pruebas de caracterización muy útiles para la diferenciación de Enterococcus de Streptococcus²³.

Enterococcus pueden diseminarse por transmisión fecal-oral, por contacto con fluidos de personas infectadas o por contacto con superficies contaminadas²³.

Especies de Enterococcus ³⁶.

Estas especies son:

E. faecalis

E. avium

E. moraviensis

E. termitis

E. faecium

E. hirae

E. villorum

E. ratti

E. phoniculicola

E. avium

E. malodoratus

E. gilvus

E. hermanniense

E. gallinarum

E. cecorum

E. saccharolyticus

E. sulfureus

E. italicus

E. haemoperoxidus

E. silesiacus

E. caccae

E. durans

E. mundtii

E. canis

E. asini

E. canintestini

E. pseudoaerium

E. raffinosus

E. pallens

E. devriesei

E. casseliflavus

E. columbae

E. aquimarinus

E. dispar

ROL DE ENTEROCOCCUS FAECALIS EN EL FRACASO DEL TRATAMIENTO DE ENDODONCIA³⁷.

El género *Enterococcus* corresponde a bacterias cocáceas, Gram positivas, del tipo anaerobios facultativos; son parte de la flora normal de la cavidad oral, del tracto gastrointestinal humano y del tracto genital femenino. Además, son causa bien reconocida de fracaso de tratamiento endodóntico y de algunas afecciones sistémicas, como infecciones del tracto urinario, infecciones de heridas quirúrgicas, bacteriemia y endocarditis bacteriana. Han desarrollado resistencia de alto nivel a los agentes antimicrobianos y poseen numerosos factores de virulencia tales como sustancias de agregación, proteínas de superficie, gelatinasa, producción de superóxido extracelular, polisacáridos capsulares y determinante de resistencia a los antibióticos. *Enterococcus* son reconocidos como potenciales patógenos humanos, causantes del 12% de las infecciones nosocomiales. De las especies de *Enterococcus*, *Enterococcus faecalis* es la más frecuentemente aislada en infecciones endodónticas recurrentes.

La presencia frecuente de *Enterococcus faecalis* en canales radiculares donde el tratamiento de endodoncia ha fallado sugiere que es un patógeno oportunista cuya persistencia en los canales representa un problema terapéutico significativo. Una vez instalado en el sistema de canales, *Enterococcus faecalis* se enfrenta a varios desafíos para asegurar su supervivencia, incluyendo la capacidad de soportar la acción de los agentes antimicrobianos utilizados durante el tratamiento endodóntico y resistir a la falta de nutrientes en canales limpios y obturados. Al analizar las posibles causas que llevan a encontrar esta bacteria en dientes que requieren tratamiento secundario de endodoncia, se sugieren dos: Una señala que *Enterococcus faecalis* posee la habilidad

de colonizar e infectar los túbulos dentinarios, lo que complica su eliminación a través de la limpieza mecánica y química, dado el diámetro reducido de estas estructuras anatómicas, junto con la capacidad que estas bacterias presentan para unirse al colágeno. Otra posible causa es la potencial resistencia que estas bacterias podrían tener al hidróxido de calcio, medicación antibacteriana más comúnmente utilizada al interior del sistema de canales radiculares durante la terapia endodóntica, lo que permitiría a estos microorganismos permanecer en estado quiescente. La persistencia de *Enterococcus faecalis* se ha atribuido a su capacidad para resistir el elevado pH del hidróxido de calcio, el cual frecuentemente se introduce en los canales y se mantiene en ellos durante al menos una semana. La resistencia de este microorganismo puede estar influenciada por los efectos de taponamiento de la dentina, de modo que el aumento de pH no se puede lograr dentro de los túbulos dentinarios, en cuyo interior puede habitar esta bacteria. Además de este hecho, la investigación de las posibles causas que producen resistencia de *Enterococcus faecalis* al hidróxido de calcio, señala que la expresión de determinados genes de esta bacteria, así como el funcionamiento de una bomba de protones, juegan un rol preponderante en este fenómeno.

MECANISMOS DE RESISTENCIA DE ENTEROCOCCUS FAECALIS A ANTIMICROBIANOS³⁷.

La actividad antimicrobiana del hidróxido de calcio se sustenta en la liberación de iones de hidróxido, los cuales son capaces de generar numerosas alteraciones en el entorno acuoso de la célula y generar cambios nocivos en la estructura de membrana, afectando finalmente el ADN bacteriano. Cuando las células de *Enterococcus faecalis*

entran en su fase de latencia, poseen una mayor resistencia al efecto antibacteriano del hidróxido de calcio, a través de un mecanismo que aún no ha sido dilucidado completamente. Aunque se ha documentado que *Enterococcus faecalis* puede soportar el alto pH del hidróxido de calcio, se sabe relativamente poco acerca de los mecanismos de supervivencia que le permiten tolerar esta exposición. Curiosamente, la resistencia a la destrucción por hidróxido de calcio observada en *Enterococcus faecalis* se comparte con otros microorganismos que han sido asociados con el fracaso en endodoncia, tales como especies de *Candida* y *Actinomyces*.

La capacidad para sobrevivir en condiciones adversas es importante para la mayoría de las bacterias, debido a los largos periodos de inanición que comúnmente experimentan. Varios sistemas de regulación desempeñan papeles esenciales en la capacidad de las bacterias para soportar el agotamiento de nutrientes. Estos sistemas están bajo el control de determinados genes, cuya transcripción se activa bajo condiciones de inanición.

En general, cuando las bacterias se enfrentan a un agente adverso o potencialmente letal, se activa una respuesta de estrés que les permite soportar la amenaza, sobrevivir y recuperarse. Cuando se induce esta respuesta, dicho estado puede conferir una protección general contra una variedad de otros factores de estrés; por ejemplo, una respuesta de estrés inducida por falta de nutrientes puede proporcionar protección contra la exposición al calor. *Enterococcus faecalis* es capaz de sintetizar una amplia variedad de proteínas cuando se expone a condiciones ambientales adversas, como son un ambiente con un pH alto o la exposición a hipoclorito de sodio (irrigante utilizado en endodoncia). Si la falta de nutrientes, la

exposición a solución de hipoclorito de sodio o al hidróxido de calcio inducen a *Enterococcus faecalis* a generar una respuesta de estrés, entonces esta puede conferir protección cruzada para ésta bacteria cuando se ve expuesta posteriormente, por ejemplo, a una nueva medicación con hidróxido de calcio, mecanismo que podría explicar en parte su resistencia.

Estudios han demostrado que a un pH 11,5 o mayor, *Enterococcus faecalis* no puede sobrevivir; sin embargo, sí puede hacerlo a concentraciones menores. Debido al efecto buffer de la dentina, es poco probable que el pH alto del hidróxido de calcio alcance los túbulos dentinarios, donde *Enterococcus faecalis* tiene la capacidad de penetrar profundamente. Aunque el pH de las pastas de hidróxido de calcio utilizado en endodoncia generalmente es 12,3 en la dentina radicular, la alcalinidad alcanzada no excede al pH 10,3 después de cubrirse los canales con hidróxido de calcio; este valor puede caer incluso a pH 8,5- 9,0 dentro del sistema de canales radiculares debido al efecto de taponamiento de la dentina, valor que no es lo suficientemente alto como para erradicar a *Enterococcus faecalis*. Por otra parte, dado que el tratamiento endodóntico en general incluye el uso alternado de medicamentos en diversas etapas de la instrumentación radicular, *Enterococcus faecalis* se expone frecuentemente a un pH alcalino «subletal», lo que podría hacer que las células bacterianas generen una respuesta de estrés que mejore su supervivencia. Así, la exposición repetida de *Enterococcus faecalis* a la solución de hipoclorito de sodio e hidróxido de calcio podrían inducir mecanismos de resistencia frente a la exposición subsiguiente, incluso a niveles que podrían ser letales. Además de la respuesta adaptativa en un pH alcalino y la síntesis de proteínas inducida por el estrés, también se ha descrito la existencia en estas bacterias de una bomba de protones con la capacidad de acidificar el citoplasma,

mecanismo que sería clave para la supervivencia de *Enterococcus faecalis* a pH alto, siendo incluso más importante que los mecanismos adaptativos señalados anteriormente. El mecanismo de funcionamiento de esta bomba de protones consiste básicamente en una respuesta de la bacteria a la penetración de iones hidroxilo al citoplasma bacteriano, los cuales elevarían el pH intracelular. Ante esto, la bomba de protones se activa y responde enviando iones potasio (cargados positivamente) hacia el citoplasma bacteriano, logrando así su acidificación e impidiendo la ocurrencia de la inhibición enzimática.

Dependiendo de la disponibilidad de nutrientes en el sistema de canales y la capacidad para sobrevivir en condiciones de baja disponibilidad de nutrientes, los microorganismos que permanezcan al interior de los canales radiculares pueden morir o seguir siendo viables. En caso de mantenerse viables, su proliferación puede ser impedida o reducida. Pese a los mecanismos de resistencia señalados con anterioridad, el fracaso del tratamiento endodóntico atribuido a microorganismos residuales sólo se producirá si éstos poseen patogenicidad, alcanzan un número suficiente y tienen acceso a los tejidos periapicales para inducir o mantener la enfermedad perirradicular. Por otra parte, la variación de la resistencia al pH alcalino puede estar relacionada con la existencia de genotipos variables entre cepas de *Enterococcus faecalis*, es decir, pueden ocurrir variaciones genéticas de las cepas de *Enterococcus faecalis* en el tiempo, que generen fenotipos de mayor resistencia al pH alcalino.

MEDICACIÓN INTRACONDUCTOS

La medicación intraconductos se caracteriza por la colocación de un fármaco o solución en el interior de la cavidad pulpar entre las sesiones necesarias para la conclusión del tratamiento endodóntico¹³.

La elección de una medicación intraconducto entre sesiones requiere de las mismas consideraciones que la aplicación de cualquier fármaco en otra región del organismo humano. Por lo tanto es necesario considerar²³:

- a) Cantidad: se debe precisar la cantidad y concentración del fármaco, para ejercer el efecto deseado sin lesionar los tejidos circundantes.
- b) Localización: se debe tener en cuenta el mecanismo de acción de la sustancia para determinar la forma apropiada de su colocación.
- c) Tiempo de aplicación: es preciso conocer el tiempo que la sustancia permanece activa. Cada uno tiene un tiempo de vida útil, después del cual su efecto se reduce o desaparece. Algunos medicamentos pierden sus propiedades en presencia de material orgánico como sangre, exudado o pus.

Chon y PittFord en 1996, han enumerado algunas posibles ventajas de la medicación temporal en el tratamiento de dientes infectados³⁸:

1. Eliminación de las bacterias que pueden persistir en los conductos después de su preparación.
2. Neutralización de los residuos tóxicos y antigénicos remanentes.
3. Reducción de la inflamación de los tejidos periapicales.

4. Disminución de los exudados persistentes en la zona apical.
5. Constitución de una barrera mecánica ante la posible filtración de la obturación temporal.

La medicación intraconducto con materiales poco irritantes puede estar indicada en el tratamiento de dientes infectados por algunos motivos²³:

A) La anatomía de los conductos radiculares es bastante compleja, existiendo zonas inaccesibles a la instrumentación y, posiblemente, a la irrigación.

B) En las periodontitis se producen reabsorciones del ápice, formándose cráteres en los que anidan bacterias que pueden permanecer inaccesibles al tratamiento. Lomca y cols en 1996 observaron al microscopio electrónico de barrido (MEB) la presencia de una placa bacteriana recubriendo el ápice en dientes con periodontitis apical.

C) Las bacterias más prevalentes, no siempre son las mismas. En los dientes infectados sin tratar, las bacterias más frecuentes son las anaerobias estrictas. En cambio en dientes con tratamiento endodóntico que ha fracasado, según Molander y cols en 1998, había mayor prevalencia de anaerobias facultativas.

D) La falta de medicación intraconducto disminuye el porcentaje de éxito en los dientes con conductos infectados. Sjogren y cols en 1997 instrumentaron e irrigaron los conductos radiculares de dientes con periodontitis apical; antes de obturar tomaron muestras de los mismos, pudiendo cultivar bacterias en aproximadamente la mitad de ellos. Y solo un 68% de los cultivos positivos tuvieron éxito clínico. Como el clínico no tiene la certeza de haber conseguido unos conductos libres de bacterias, en los casos de periodontitis creemos aconsejable una medicación intraconducto.

E) Aunque durante mucho tiempo se utilizaron antisépticos demasiado irritantes en el interior de los conductos. El hidróxido de calcio es el más tolerante con los tejidos vitales.

Objetivos de la medicación intraconducto³⁹

1. Eliminación de las bacterias que puedan persistir en los conductos tras su preparación.
2. Fijar y neutralizar los residuos tóxicos y antigénicos remanentes en el espacio pulpar (momificar).
3. Reducción de la inflamación y el exudado en la zona periapical; control del absceso periapical persistente (contacto directo del medicamento con la lesión periapical).
4. Constitución de una barrera mecánica ante la posible filtración de la obturación temporal.
5. Prevenir o controlar el dolor postoperatorio: reduciendo la respuesta inflamatoria se reduciría el dolor. Acción farmacológica directa del medicamento sobre los nervios sensoriales pulpares y periapicales.
6. Mejorar la anestesia: reducen la sensibilidad de la pulpa inflamada y difícil de anestésiar.

Sustancias utilizadas en la medicación intraconducto⁴⁰

1. Aldehídos⁴⁰

Dentro de este grupo el formaldehído ha sido extensamente utilizado en endodoncia y todavía goza de gran popularidad, a pesar de su efecto tóxico y gran potencial mutagénico.

El formaldehído es volátil y por lo tanto libera vapores antimicrobianos si es aplicado con una torunda de algodón para desinfectar la cavidad pulpar. Todos estos preparados son tóxicos potentes con efectividad antimicrobiana muy inferior a su toxicidad.

Si se tiene en cuenta los fuertes efectos tóxicos y destructores tisulares, el potencial mutagénico y carcinogénico, no existe razón clínica para su uso como fármaco de elección durante la terapia endodóntica. Las alternativas a estos productos son mejores antisépticos y con una toxicidad significativamente menor

2. Halógenos⁴⁰

El cloro se ha utilizado durante muchos años para la irrigación de los conductos radiculares. También es empleado en ocasiones como apósito al interior de los conductos radiculares.

Del mismo modo el yodo, en forma de yoduro potásico yodado, proporciona una solución antiséptica muy efectiva, con toxicidad tisular baja. Se ha demostrado in vitro que este compuesto es capaz de penetrar más de 1000 μm de dentina en 5 minutos. La sustancia es un desinfectante eficaz para la dentina infectada, capaz de destruir las bacterias presentes en la dentina al cabo de 5 minutos de exposición in vitro. El yoduro

potásico yodado libera vapores con una fuerte capacidad antimicrobiana. También se ha demostrado que la tintura de yodo (5%) es uno de los pocos fármacos fiables para desinfectar el dique de goma y las superficies del diente durante la preparación de un campo de trabajo endodóntico aséptico

3. Alcoholes⁴⁰

El alcohol etílico e isopropílico, desnaturalizan proteínas y se aplican en grandes concentraciones. Los alcoholes secundarios son más eficaces que los primeros. En ausencia de agua, hay menor posibilidad de que surja la desnaturalización, lo cual explica por qué el alcohol de 70% es más eficaz que los alcoholes de 96 o 99%. No se recomienda el uso de alcoholes como antisépticos intracanalulares, por su escaso efecto antimicrobiano; sumergir o flamear los instrumentos tampoco constituye métodos seguros para destruir microorganismos

4. Compuestos fenólicos⁴⁰

Son el grupo de sustancias más utilizadas en la medicación intraconducto. Poseen una acción antibacteriana variable en función de su composición química ya que, además del fenol, muchos preparados incorporan otras sustancias. En sí, la acción de los derivados fenólicos es actuar por disrupción del contenido lipídico de la membrana bacteriana, resultando en una precipitación de la membrana celular. A mayores concentraciones actúan por precipitación de las proteínas citoplasmáticas celulares. A bajas concentraciones inactivan los sistemas enzimáticos esenciales y también pueden causar lisis de la pared bacteriana celular. Los estudios demuestran que los compuestos fenólicos no sólo son antisépticos, sino que además son citotóxicos y desafortunadamente no selectivos en su acción, dañando tanto células del huésped

como células bacterianas. Sin embargo esta citotoxicidad es dependiente de la concentración fenólica presente, y esta citotoxicidad observada in vitro rara vez se observa clínicamente. Las sustancias fenólicas también son incapaces de liberar vapores antimicrobianos efectivos, y por lo tanto, resultan ineficaces cuando se aplican en una torunda de algodón al interior del espacio pulpar.

Entre los compuestos fenólicos tenemos los siguientes: Eugenol, Formocresol, Paramonoclorofenol, Paramonoclorofenol alcanforado, Cresol, Creosota y Timol.

5. Antibióticos⁴⁰

Desde los años cincuenta se propusieron numerosas combinaciones de antibióticos para ser usadas como medicación temporal en los conductos radiculares: Penicilina, Bacitracina, Estreptomicina. Más recientemente se han propuesto combinaciones de Ciprofloxacino, Metronidazol y Amoxicilina, eficaces en estudios in vitro, así como la de la misma combinación, pero sustituyendo la Amoxicilina por la Minociclina en el interior de los conductos radiculares y manteniéndolos en ellos por un período de 24 horas. Su efecto antibacteriano es eficaz, similar al del Paramonoclorofenol alcanforado y con menos efectos citotóxicos.

El primer reporte del uso local de antibióticos en endodoncia fue en 1951, cuando Grossman empleó una pasta antibiótica conocida como PBSC (Penicilina, Bacitracina, Estreptomicina y Caprilato sódico). Más tarde la Nistatina reemplazaría al Caprilato sódico como antifúngico, en un medicamento llamado PBSN.

Para conseguir un postoperatorio libre de dolor se han combinado los antibióticos con corticoides, limitado a un período de tiempo corto, no superior a 7

días. Negm concluyó que el uso intracanal de una crema de corticoide-antibiótico ayuda a controlar el dolor post-extirpación y post- instrumentación en los dientes vitales

6. Hidróxido de Calcio⁴⁰

El Hidróxido de Calcio se presenta como un polvo de color blanco, con un pH alrededor de 12,5, insoluble en alcohol y escasamente soluble en agua. Esta propiedad representa una ventaja clínica ya que, cuando se pone en contacto con los tejidos del organismo, se solubiliza en ellos de forma lenta. Es un agente antimicrobiano recomendado por variadas situaciones clínicas debido a sus propiedades antibacterianas, antiinflamatorias y potencial osteogénico.

El tiempo de aplicación de la medicación posee suma importancia, ya que los iones OH difunden lentamente a través de la dentina, debiendo vencer la capacidad buffer de la hidroxiapatita.

Existen numerosos estudios respecto al tiempo de aplicación necesario para la efectividad adecuada del Hidróxido de Calcio, sin embargo, todos ellos concluyen que períodos cortos de tiempo de aplicación son ineficaces para una desinfección apropiada del sistema de conductos radiculares.

Por esto, no sólo es necesario el lavado del conducto y su posterior relleno con pasta de Hidróxido de Calcio, sino que además, su aplicación al interior de los conductos no debe ser inferior a un período de 7 días, para lograr un pH altamente alcalino en la dentina interna, condición en la cual la mayoría de las bacterias aisladas de los conductos infectados, no puede desarrollarse.

Siqueira y col. recomiendan el uso de una pasta de Hidróxido de Calcio durante un período de 7 días como medicación intracanal para asegurar la desinfección del diente, luego de haber empleado como irrigante el hipoclorito de sodio al 2.5% .

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS NATURALES⁴¹

Debido a la presencia de especies bacterianas resistentes al tratamiento endodóntico convencional y la ineficacia de los agentes utilizados más comúnmente en la neutralización de la endotoxina de irrigación, es útil estudiar diversas sustancias para este propósito. La diversidad de la flora se abre la posibilidad de estudiar extractos naturales tales como el riego en la terapia endodóntica. En 2008, Murray y col. jugo de fresa estudiado (*Morinda citrifolia*) como irrigador en los conductos radiculares, y llegó a la conclusión, sobre la base de este estudio, como una alternativa al uso de hipoclorito de sodio como irrigante en los conductos radiculares. Existen varias plantas medicinales en la flora brasileña que son fuente importante de la terapéutica. Por lo tanto, el uso de extractos naturales ha sido objeto de estudio en diferentes campos, incluyendo la odontología, que hace que sea interesante para evaluar el efecto de los extractos naturales de microorganismos y endotoxinas presentes en las infecciones primarias y secundarias del canal de la raíz con el fin de extender la terapia de endodoncia, por lo que es cada vez más eficaz en la eliminación de microorganismos y sus productos. Además de los extractos de plantas naturales, propolis, es un extracto natural de origen animal, también utilizado ampliamente por tener varias propiedades medicinales. Es producida por las abejas, insectos que recogen y compuestos de proceso de ciertas especies de plantas. Las propiedades de

estos compuestos varían según la especie de la que se recogieron los datos con la época del año, el lugar de recogida, entre otros factores

Las plantas tienen una capacidad casi ilimitada para sintetizar sustancias con actividad farmacológica. La mayoría de los compuestos se producen como metabolitos secundarios y, en muchos casos, estas sustancias contribuyen al mecanismo de defensa de la planta contra la depredación por microorganismos, insectos y herbívoros

Hay varias clases de fitoquímicos antimicrobianos tales como fenoles y polifenoles - clase que incluyen flavonas, flavonoles y flavonoides, cumarinas y taninos - aceites esenciales y terpenoides, alcaloides, lectinas y polipéptidos, entre muchos otros. La extracción de los principios activos se lleva a cabo mediante solubilización de los componentes en agua, alcohol u otros disolventes, seleccionado de acuerdo con la polaridad de la sustancia de interés⁴¹.

PROPÓLEO⁴²

El propóleo es uno de los productos de la colmena con cualidades terapéuticas conocidas desde hace miles de años. El propóleo es una sustancia natural parecida a una resina pegajosa que las abejas obtienen de las resinas de la corteza de ciertos árboles. Ellas lo mezclan con saliva y cera de abejas. El propóleo es usado por ellas para muchas cosas dentro de la colmena, entre ellas como sellador de cualquier tipo de espacio o rotura. Es aceptado que las abejas producen el propóleo con la finalidad de ayudar a proteger la colonia de abejas. Además de su papel en el sellado y reparación de roturas, el propóleo es un gran antiséptico para prevenir infecciones en los lugares donde se crían las larvas, o donde se guarda la miel. Las abejas lo colocan donde se necesite una zona libre de gérmenes. Es por esta razón que se dice que las

abejas fabrican su propio antibiótico. Además las capas finas de propóleo ayudan a mantener la humedad de la colmena al reducir el escape de agua.

USOS EN ODONTOLOGÍA⁴².

Prevención: Por sus propiedades anticariogénicas en la lucha contra los gérmenes cariogénicos. El microorganismo básico en el desarrollo de la caries dental es el *Streptococcus Mutans* y en menor grado el *Lactobacillus Acidófilo*. Este *Streptococcus* tiene la habilidad de adherirse a las estructuras dentarias, produciendo ácido y resistir el pH relativamente bajo. El potencial anticariogénico ha sido demostrado en múltiples estudios, los cuales muestran la reducción de la incidencia de caries y acumulación de placa in vitro e in vivo. En el año 1991, Ikeno et al probaron que el propóleo reducía considerablemente las caries en ratas, al actuar en varias direcciones sobre la flora bacteriana, la síntesis de glucanos y bajar la acción de la glucosiltransferasa. Ozan et al demostraron que las soluciones en base a propóleo usadas como enjuagatorios bucales tenían baja afectación de los fibroblastos en comparación con los enjuagatorios en base a clorhexidina. Esta capacidad está directamente ligada a la presencia de flavonoides, fenoles y esteroides. En estudios realizados en CIO (centro de Investigaciones odontológicas de la Universidad de los Andes de Venezuela) se observó que el crecimiento del *Streptococcus Mutans* es inhibido en presencia de propóleo⁴².

Periodoncia: A nivel periodontal el propóleo ha demostrado propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas, anestésicas y cicatrizantes en casos de gingivitis crónicas y úlceras bucales recurrentes y para mejorar el tratamiento periodontal. Otros

estudios realizados con soluciones de propóleo, han demostrado que actúa a nivel de la placa supra- gingival (en gram +) ayudando a la recuperación de los tejidos y estimulando la respuesta inmune local. Como antiinflamatorio, inhibe la síntesis de prostaglandinas y ayuda al sistema inmune promoviendo la fagocitosis y estimulando la inmunidad celular. Algunos autores han creado parches bucales para lograr la liberación de propóleo lentamente, logrando buenos resultados. Bruschi et al encontraron en un gel mucoadhesivo que conteniendo propóleo y aplicado en bolsas periodontales, podía ser usado con éxito en el tratamiento de la enfermedad periodontal, Coutinho et al encontraron también que el propóleo en solución usado como irrigante previo al tratamiento periodontal obtenía muy buenos resultados. Se ha usado en el tratamiento del virus del Herpes simple en forma de solución, Shimizu et al encontraron que las soluciones de propóleo actúan deteniendo la progresión de los cambios en la piel en los primeros estados de la enfermedad además de no tener efectos citotóxicos⁴².

Operatoria dental: Se ha usado con éxito en la regeneración de la pulpa dental en los casos de exposición accidental usado para recubrimiento pulpar directo. También en el tratamiento de la hipersensibilidad dental es usado con gran éxito. Concuerta con otros estudios realizados por Koo y col, también Topcuoglu, Ozan, Ozurt y Kulelkci han propuesto la incorporación de extracto de propolis en cementos de Ionómero de vidrio consiguiendo reducciones significativas de la cantidad de Streptococos Mutans en los que se había agregado propóleo. En un estudio de Ahangari, Naseri et al se ha visto que es muy buen agente en el recubrimiento de la pulpa dental estimulando la formación de la misma comparándola con el tradicionalmente usado hidróxido de calcio. Se vio que este material tiene ventajas

sobre este último ya que la dentina formada en contacto con el propóleo presentaba mucha mejor calidad. La dentina que se formaba en contacto con el propóleo era en un 100% dentina tubular. La que estaba en contacto con el hidróxido de calcio sólo de 14%. Ahangari et al mostraron la alta efectividad del recubrimiento directo de la pulpa comparándolo con el hidróxido de calcio, ya que no sólo controla la reacción inflamatoria sino que controla la infección e induce la formación de dentina de alta calidad. De acuerdo con Sabir et al esto se debe a la presencia de flavonoides. También es muy usado en el tratamiento de la hipersensibilidad dental donde empleando geles de propóleo al 10 y 30% consiguieron una obliteración de los conductos, reduciendo significativamente la sensibilidad dentaria, esto se explica por la capacidad del propóleo de obliterar los túbulos dentinarios⁴².

Endodoncia: Como medicación intraconducto, en el tratamiento endodóntico es muy efectivo. Se realizaron estudios comparativos con CaOH y el propóleo demostró ser muy superior (tintura hidroalcohólica al 4%). En un estudio hecho por Jahromi, Toubayani y Rezaei encontraron que el propóleo comparado con el hidróxido de calcio es más efectivo en la reducción de las colonias de *Enterococcus faecalis*, microorganismo que está presente en la mayoría de los fracasos endodónticos. También se ha comparado con el hipoclorito de sodio en cuanto a la eficacia como irrigante siendo igual de efectivo que el propóleo. Esta es la gran ventaja del propóleo la ausencia de inflamación periapical y el efecto protector sobre las células periodontales⁴².

Cirugía: Numerosos estudios han demostrado la utilidad de colocar los dientes avulsionados que se van a reimplantar como forma de conservación para su transporte

en una solución hidroalcohólica de propóleo al 10%, Ozan et al demostraron que esta es una mejor forma de conservación que la leche o la solución salina. Se ha utilizado en heridas quirúrgicas post extracción (solución hidroalcohólica al 10%) y actúa sobre la epitelización de las heridas y aceleración de la cicatrización. También se ha usado en los casos de complicaciones post-extracciones como ser en las alveolitis. Magro-Filho y de Carvalho encontraron que el uso de propóleo reduce la inflamación luego de la cirugía además de tener efecto analgésico. En estos casos se puede usar mezclado con miel en la proporción 90% de miel y 10% de propóleo⁴².

El propóleo contiene mayormente 50-55 % de resinas y bálsamos vegetales, 30 % ceras, aceites aromáticos 10 %, 5 % de polen, y diferentes compuestos orgánicos 5 % en su forma cruda. La composición precisa incluye más de 300 componente⁴³.

La composición del propóleos varía en función de su zona geográfica de aislamiento, fuentes botánicas, el método de cosecha y condiciones climática. En términos generales, el propóleo contiene las clases químicas de compuestos fenólicos, flavonoides y otros varios componentes aromático. Específicamente el propóleo contiene flavonoides incluidos flavonas, flavonoles y flavanonas; aminoácidos; terpenos y sesquiterpenos alcohólicos y sus derivados; ácido benzoico y sus derivados; éster de ácido cafeico fenetilo; tetrochrysin; isalpinin pinocembrina chrysin galangin; Ácido ferúlico; ácido cafeico; vanilina, esteroides y esteroides hidrocarburos; ácido cinámico y alcohol de cinamilo y sus derivados; varios minerales y azúcar. Además, contiene elementos tales como hierro y zinc que son importantes para la síntesis de colágeno⁴³.

Funciones terapéuticas⁴³.

El propóleo se ha utilizado en remedios tradicionales o populares por varias décadas. Esta fitomedicina ha documentado varios efectos terapéuticos y medicinales.

Estos documentos incluyen beneficios con actividad antiinflamatoria, hepatoprotector, antibacteriana, antiviral, antimicótico, antioxidantes, Los propóleos también muestra efectos anestésicos, regenerativa, anticancerígenas y actividad inmunomoduladora. . El propóleo es comercialmente disponible en diversas formas, tales como dentífricos, enjuagues bucales, pastillas, jarabes para la tos, pastillas, cremas y geles.

Propóleos en la odontología⁴³

La fitomedicina está ganando rápidamente un lugar en odontología con un gran número de materiales derivados de plantas en fase de investigación. Los propóleos de diferentes regiones geográficas muestra propiedades antimicrobianas antivirales y antifúngicos similares, a pesar de las diferentes composiciones .Estos confieren diversos beneficios terapéuticos al propóleo, permitiendo su uso en odontología por una variedad de razones, que van desde la terapia de pulpa hasta su uso como un medio de la reimplantación de dientes. Las acciones terapéuticas específicas del propóleo en la odontología son las siguientes:

ACCIÓN ANTIINFLAMATORIA⁴³

Las acciones antiinflamatorias de propóleo se deben a los flavonoides y ácido cafeico fenil éster (CAPE) presentes en el propóleos. Ambos de estos compuestos funcionan a través de la inhibición de la ruta de la lipoxigenasa del ácido araquidónico.

EFICACIA ANTIMICROBIANA DEL PROPÓLEO⁴³

El propóleo muestra propiedades antimicrobianas, antivirales y antifúngicas. Las concentraciones de propóleos empleados para demostrar la acción antimicrobiana de propóleos van desde el 30 % (peso a volumen). Los flavonoides en el propóleo tienen propiedades antimicrobianas (antiviral, antifúngico, antibacteriano)⁴³.

La actividad antimicrobiana del propóleo es mayor contra las bacterias Gram-positivas que las gram negativas. Se sugiere que esta capacidad se debe a la acción de flavonoides como: pinocembrina (flavonone) y galangina (flavonoles), así como también del fenil éster del ácido cafeico, cuyo mecanismo de acción se basa en la inhibición de la RNA polimerasa bacteriana. El mecanismo de acción de la galangina, consiste además en degradar la membrana citoplasmática de las bacterias, lo que conduce a una pérdida de iones de potasio, provocando autólisis de la célula. La quercetina, aumenta la permeabilidad de la membrana, y disipa su potencial, haciendo que las bacterias pierdan su capacidad de motilidad, transporte de membrana y síntesis de ATP, haciéndolas más vulnerables al ataque inmunológico y potenciando a los antibióticos. Mientras que la capacidad antibacteriana de los flavonoides es clara, no parece haber una causa específica, lo que sugiere que hay un efecto combinado o sinérgico en el trabajo⁴⁴.

ACCIÓN ANTIBACTERIAL⁴³

El propóleos muestra acción antibacteriana contra una gama de microorganismos orales, tanto Gram negativas y Gram positive.

La acción antibacteriana se dirige más contra bacterias Gram positivas que las bacterias Gram-negativas.

La actividad antibacteriana se evaluó por el método de difusión en disco o el método de dilución. El mecanismo de la actividad antimicrobiana de propóleos puede ser debido en gran parte a la flavonoids- pinocembrina , galangin , y pinobanksina . La eficacia de propóleo contra el microorganismo principal implicado en la etiología de la caries, *Streptococcus mutans*. El propóleos también tiene actividad antibacteriana contra patógenos de conductos radiculares.

ACCIÓN ANTIMICOTICA⁴³

El propóleos se ha encontrado que tienen actividad antimicrobiana contra varias especies de hongos como la *Candida albicans*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* y *Trichosporon spp.* El contenido en flavonoides de propóleos confiere sus propiedades antimicóticas y también impide la división celular de los hongos, se rompe la pared celular de los hongos y el citoplasma y esta acción es comparable a la acción de algunos antibióticos

ACCIÓN ANTIVIRAL⁴³

El propóleos muestra alguna acción contra los virus y puede ser tan eficaz como el aciclovir contra el virus del herpes simple.

PROPIEDADES ANTI - ONCOGÉNICOS DE PROPÓLEO⁴³

Las células tumorales son más sensibles a los efectos de radiación cuando hay deficiencia de la síntesis de glutatión. El propóleo ejerce propiedades anti oncogénicas mediante la producción de glutatión en el tejido hematopoyético. Reducción de la peroxidación de lípidos, el aumento de células de la sangre y la hemoglobina son

también algunos de los efectos de radio - protector beneficioso atribuido a propóleos. Fenil éster del ácido cafeico (CAPE) en el propóleo tiene propiedades anti - mitogénica y anti – cancerígenos.

EFFECTO DE PROPÓLEOS EN LAS PROPIEDADES MECÁNICAS DE LOS DIENTES⁴³

Giamalia et al estudiaron el efecto de las soluciones de propóleos sobre la microdureza del esmalte. Ellos encontraron un aumento constante de microdureza con el aumento de porcentaje de propóleos en la solución de 0,4% a 2 %.

Ellos sin embargo, no identificaron el componente del propóleo responsable de esta mineralización

PAPEL DE PROPÓLEOS EN LA FORMACIÓN DE PUENTES DE DENTINA Y EL RECUBRIMIENTO PULPAR⁴³

Propóleo ha sido probado como un agente de recubrimiento pulpar como el propóleo tiene la capacidad de estimular mineralization. Parolia A. et al investigaron la respuesta de pulpas de propóleo como un agente de recubrimiento pulpar en premolares. El propóleos fue comparable a la MTA y Dycal como agente de recubrimiento pulpar en cuanto a la formación de un puente de tejido duro / dentina. La estimulación de diversos sistemas enzimáticos, el metabolismo celular, la circulación y la formación de colágeno podría contribuir a la formación de un puente de tejido duro por propóleos. Estos efectos se han demostrado para ser el resultado de la presencia de arginina , vitamina C , provitamina A, complejo B y minerales traza , tales como cobre, hierro , zinc , así como bioflavonoides.

PROPÓLEO COMO UN AGENTE DE OBTURACIÓN EN LOS DIENTES PRIMARIOS⁴³

El propóleos es eficaz contra los microbios aerobios y anaerobios de endodoncia. Propolis es capaz de difundirse a través de la dentina y esta propiedad puede permitir su uso como un vehículo para el hidróxido de calcio. Panzeri et al investigó Propolis brasileños en combinación con hidróxido de calcio como una pasta de obturación en los dientes primarios. Ellos mostraron que Propolis brasileros en combinación con hidróxido de calcio (con o sin extracto etanólico) mostraron zonas de inhibición de crecimiento más grandes contra microorganismos de muestras de canal de la raíz primaria que pasta de hidróxido de calcio in vitro. Varios estudios han mostrado resultados similares que demuestran la eficacia de los propóleos contra patógenos endodónticos.

PROPÓLEO COMO IRRIGANTE ENDODÓNTICO⁴³

El propóleo ha sido usado como irrigante endodóntico debido a su acción antibacteriana, en particular contra los anaerobios que se encuentran en el conducto radicular. En un estudio in vitro, se encontró que los propóleos brasileños fue tan eficaz como el hipoclorito de sodio 3% contra *E. faecalis* cuando se utiliza como un irrigante canal de la raíz en los dientes permanentes, pero menos eficaz que MTAD (mezcla de Doxiciclina, Ácido cítrico y Tween- 80) .Similares resultados fueron obtenidos en otro estudio in vitro en los dientes permanentes utilizando 30% propóleo verde brasileños como irrigante endodóntico. En este estudio, el propóleos se encontró que era más eficaz contra *E. faecalis*, pero menos eficaz frente a *C. albicans*, en comparación con clorhexidina al final de 48 horas y 10 días.

HIDRÓXIDO DE CALCIO³⁹

El hidróxido de calcio [Ca (OH)2], ha sido y es intensamente utilizado en la práctica de la endodoncia. Hermann BW (70), publicó en abril de 1950 un trabajo sobre la acción del arsénico en el tratamiento de conductos y en noviembre del mismo año, tal vez buscando un sustituto de esta droga, presenta al calxyl como una sustancia no corrosiva, compuesto por hidróxido de calcio con el agregado de otras sustancias (CO3HNa, ClNa, Cl2Ca y ClK), destinadas a aumentar su compatibilidad con los tejidos pulpares. Este autor describe la reacción de la pulpa dental al hidróxido de calcio, luego de su amputación vital, observando necrosis superficial, y la formación de una escara firme y protectora que impide la penetración del cáustico, limitando así la profundidad de la lesión. Debajo de la zona necrótica, la pulpa cicatriza formando una nueva capa de dentina³⁹.

Desde esa fecha, el hidróxido de calcio, ha sido utilizado en tratamientos de protecciones pulpares, biopulpectomías parciales, reabsorciones cemento dentinarias, reparación de perforaciones al periodonto, como desensibilizante, en soluciones irrigantes y como medicación intraconducto entre sesiones³⁹.

TIEMPO DE PERMANENCIA³⁹

Aunque algunos trabajos mencionen la posibilidad de que la alcalinización de la dentina se produzca en periodos de 1 a 7 días, otros registraron que en periodos mayores (7 a 30 días), este producto proporciona una desinfección más efectiva del conducto radicular.

A partir de ello no queda claro cuál es el periodo mínimo necesario para que la medicación temporaria con hidróxido de calcio ejerza un efecto antibacteriano apreciable.

El concepto de que la alcalinización de la dentina necesaria para la desinfección requiere de periodos de 7 a 30 días, tiene como contrapartida el riesgo de mantener el diente con una restauración provisional por plazos mayores. La experiencia clínica aconseja concluir el tratamiento endodóntico lo más rápido posible.

Con el objeto de conciliar el tiempo de permanencia, se recomienda el uso de la medicación temporaria entre sesiones con hidróxido de calcio por un periodo de 7 días. Como opción en casos con grandes lesiones periapicales o reabsorciones nítidas o ambas afecciones, este fármaco podrá dejarse por 30 días³⁹.

El $\text{Ca}(\text{OH})_2$ al ser aplicado sobre los tejidos dentarios, básicamente produce dos efectos que va a depender de que los tejidos estén necróticos o vitales⁴⁵:

Tejidos necróticos: Efecto bactericida

Tejidos vitales: Inducción de la mineralización

EFECTO BACTERICIDA⁴⁵:

En los tejidos necróticos el $\text{Ca}(\text{OH})_2$ desinfecta por su gran capacidad antibacteriana, la que se relaciona con la liberación de iones hidroxilos, los cuales son radicales altamente oxidantes y con una gran reactividad que puede provocar:

- Daño a la membrana citoplasmática por la destrucción de los fosfolípidos.

- Daño al ADN celular, induciendo la separación de las cadenas y con ello a la replicación celular.
- Desnaturalización proteica, por la alcalinización que induce el rompimiento de los enlaces iónicos de la estructura terciaria de las proteínas.
- También se ha postulado que el hidróxido de calcio es capaz de alterar el Ph del medio donde es colocado, lo cual aumenta su efecto bactericida.

EFECTO ANTIMICROBIANO¹⁵.

La acción bactericida del $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ha sido relacionada con la liberación de iones hidroxilo, los cuales son radicales altamente oxidantes, con una gran reactividad, lo que dificulta que puedan difundirse a sitios distantes. Sus efectos letales sobre las bacterias (y las células) ocurren por los siguientes mecanismos¹⁵:

Daño a la membrana citoplasmática¹⁵.

Los iones hidroxilo inducen peroxidación de lípidos, provocando la destrucción de los fosfolípidos componentes de la membrana celular. Remueven los átomos de hidrógeno de los ácidos grasos insaturados, generando radicales libres lipídicos, los que reaccionan con el oxígeno formando radicales peróxidos, que remueven otro átomo de hidrógeno de otro ácido graso, creando una reacción en cadena que conlleva a un daño extenso en la membrana.

Desnaturalización proteica¹⁵.

La alcalinización producida por el Ca (OH)₂ induce el rompimiento de los enlaces iónicos de la estructura terciaria de las proteínas. Esto tiene como consecuencia que muchas enzimas pierdan su actividad biológica, alterando el metabolismo celular. Los iones hidroxilo también pueden ocasionar daño estructural a las proteínas.

Daño al DNA¹⁵.

Los iones hidroxilo reaccionan con el DNA celular induciendo la separación de las cadenas, inhibiendo la replicación celular y la pérdida de genes.

GLUCONATO DE CLORHEXIDINA²⁴

La Clorhexidina al 2% es un agente antimicrobiano de amplio espectro que actúa sobre las bacterias Gram negativas y Gram positivas, no es una sustancia tóxica, tiene un componente catiónico que va a unirse a las membranas celulares que se encuentran cargadas negativamente, produciendo así, una lisis celular²⁴.

Mecanismo de acción

La clorhexidina actúa generalmente en la reabsorción en la pared celular de los microorganismos produciendo la salida de los componentes intracelulares. A concentraciones bajas las sustancias de bajo peso molecular como el Potasio y el Fósforo saldrán, produciendo así un efecto bacteriostático. En concentraciones más altas esta sustancia tiene un efecto antibacteriano por la precipitación y/o coagulación del citoplasma, causada por la reticulación de las proteínas. (Fardal & Turnbull, 1986). Su uso como irrigante endodóntico, se basa en su acción antimicrobiana de amplio

espectro y de larga duración debido a su unión con la hidroxiapatita, la sustantividad y una ausencia relativa de toxicidad. Sin embargo esta sustancia no posee propiedades disolventes de tejido conocidas. Algunos investigadores han encontrado que tiene efectos antibacterianos significativamente mejores que el Hidróxido de Calcio en cultivos²⁴.

Uso de la Clorhexidina en Endodoncia⁴⁶

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

La clorhexidina es una molécula catiónica simétrica que consta de dos anillos de 4-clorofenil y dos grupos biguánidos unidos por un anillo central de hexametileno. Es una base fuerte y es más estable en forma de sales. La preparación más común es la sal de digluconato por su alta solubilidad en agua.

Propiedades de la clorhexidina ⁴⁶

Entre sus principales propiedades y para su aplicación en Endodoncia se destacan las siguientes:

- 1) Efecto bactericida y bacteriostático.
- 2) Actividad antimicrobiana de amplio espectro.

3) Sustantividad (capacidad antimicrobiana a largo plazo).

1) Efecto bactericida: En altas concentraciones la clorhexidina induce la precipitación o coagulación del citoplasma celular. La actividad antimicrobiana de la clorhexidina se debe a que es absorbida por la pared celular causando rotura y pérdida de los componentes celulares⁴⁶.

Efecto bacteriostático: En bajas concentraciones, sustancias de bajo peso molecular, como el potasio y el fósforo pueden disgregarse ejerciendo un efecto bacteriostático. Este efecto ocurre debido a la lenta liberación de la clorhexidina. Se ha dicho que el efecto bacteriostático de la clorhexidina es de mayor importancia que el efecto bactericida⁴⁶.

2) Actividad antimicrobiana de amplio espectro: Es activa contra un amplio rango de organismos gram +, gram -, levaduras, hongos, anaerobios facultativos, y aerobios. Fardal y Turnbull (1986) afirman que los estafilococos, Estreptococos mutans, salivaris y la Escherichia coli son altamente susceptibles a la clorhexidina; el Estreptococo sanguis posee susceptibilidad intermedia y la klebsiella baja susceptibilidad. También afirman que la clorhexidina tiene la capacidad de desnaturalizar los Proteus y las Seudomonas⁴⁶.

3) Sustantividad: El gluconato de clorhexidina es adsorbido por la hidroxiapatita de la superficie dental y las proteínas salivales y es subsecuentemente liberado cuando disminuye la cantidad del mismo en el medio bucal⁴⁶.

Estudios acerca del poder antimicrobiano de la clorhexidina⁴⁶.

Debido a las propiedades anteriormente mencionadas, varios investigadores han sugerido el uso de la clorhexidina como solución de irrigación de los conductos radiculares. Los resultados del estudio realizado por Delany et al. (1982) sostienen que la solución de clorhexidina al 0,2% es un agente antimicrobiano efectivo cuando es utilizada como solución irrigante de los conductos radiculares. Al ser utilizada la clorhexidina para estos fines, hubo una drástica reducción de la flora bacteriana dentro del conducto radicular luego de la instrumentación.⁴⁶

Hubo total eliminación de microorganismos cultivables en un 70% de los dientes uniradiculares y en un 80% de los multiradiculares. Dejando la clorhexidina dentro del conducto radicular luego de la instrumentación, como medicamento entre sesiones, hubo una reducción significativa de la flora bacteriana. Kuruvilla y Kamath (1998) realizaron comparaciones entre la clorhexidina al 0,2% y el hipoclorito de sodio al 2,5%, de manera individual y combinados, mostrando la clorhexidina un porcentaje de reducción de microorganismos de un 70%. La combinación de clorhexidina e hipoclorito de sodio presentó el mejor porcentaje de reducción de microorganismos, 84,6%. El hipoclorito de sodio tuvo un porcentaje de reducción del 59,4%. A pesar de estos resultados, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre el hipoclorito de sodio y la clorhexidina, utilizados como soluciones de irrigación de conductos radiculares de manera individual. Yesilsoy et al. (1995) determinaron in vivo e in vitro la susceptibilidad de ciertos microorganismos (gram+ aerobio *Streptococcus mutans*, gram- anaerobio *Prevotella intermedia* y *Porphyromonas gingivalis*) a la acción quimioterapéutica de soluciones

de hipoclorito de sodio y clorhexidina. Los resultados muestran que el gluconato de clorhexidina al 0,12% es tan efectivo como el NaOCl al 5,25% contra todos los microorganismos utilizados en el estudio. Bajas concentraciones de NaOCl (2,5%, 0,5%) resultaron ser menos efectivas. Aunque la clorhexidina no posee poder de disolución de materia orgánica, facultad que presenta el hipoclorito de sodio, la clorhexidina es tan efectiva como el hipoclorito en su actividad antimicrobiana, actividad que permanece durante varias horas después de la instrumentación. Aunque el hipoclorito de sodio es igualmente efectivo en la exposición inicial, no tiene la propiedad de la sustentividad antimicrobiana.⁴⁶

La clorhexidina ha reportado hallazgos clínicos superiores al paramonoclorofenol y al hidróxido de calcio con respecto a su actividad antibacteriana, pero estos resultados no son estadísticamente significativos. En un estudio in vitro realizado por Leonardo et al. (2001), la solución de gluconato de clorhexidina al 2,0% ejerció su actividad antimicrobiana sobre microorganismos que han sido asociados a casos de infecciones endodónticas persistentes o resistentes al tratamiento, como el *Estafilococos aureus*, *Seudomonas aeruginosa*, *Estafilococos epidermidis*, *Enterococos faecalis*, y *Cándida albicans*. El *Enterococos faecalis* es el microorganismo más comúnmente aislado en los conductos infectados (Parsons et al., 1980). Por otra parte Baugmgartner y Falker (1991) aislaron en los 5 mm apicales de conductos radiculares infectados, las especies *Lactobacilos*, *Bacteroides*, *Peptoestreptococos*, *Veillonella párvula*, *Bacteroides buccae*, *Enterococos faecalis*, *Fusobacterium nucleatum* y *Estreptococos mutans*. Hubo una presencia predominante

de bacterias anaeróbicas. La clorhexidina ha comprobado ser un antimicrobiano efectivo ante la mayoría de estas especies.⁴⁶

Ventajas derivadas de la sustantividad antimicrobiana⁴⁶

La sustantividad es una de las propiedades por la que se reconoce a la clorhexidina como una efectiva solución de irrigación del sistema de conductos radiculares. Se ha demostrado que los conductos tratados con esta solución son menos susceptibles a la reinfección, lo cual puede ser ventajoso en el control de las infecciones producidas por la filtración coronaria que pudiera ocurrir entre sesiones (Yesilsoy et al., 1995). Las bacterias como el *Enterococos faecalis* pueden persistir dentro del sistema de conductos radiculares y provocar la presencia de periodontitis apical. La periodontitis apical también se puede desarrollar subsecuentemente al tratamiento, debido a la contaminación bacteriana del sistema de conductos como resultado de la filtración coronaria.³⁶

Las raíces tratadas con clorhexidina parecen adquirir sustantividad antimicrobiana. Está confirmado que este efecto se extiende por 7 días. En un estudio realizado por Komorowski et al. (2000), la clorhexidina fue utilizada como medicamento intraconducto en raíces de bovinos durante el período de 7 días. Los resultados mostraron una inhibición de la colonización de *E. faecalis*, en la dentina radicular. En este mismo estudio, el *Enterococos faecalis* fue incapaz de colonizar los túbulos dentinarios 21 días después de que las raíces de fueran tratadas con clorhexidina al 0,2% por 7 días, confirmando la sustantividad antimicrobiana. Esta propiedad es única en la clorhexidina, y ocurre como resultado de la absorción y la subsecuente liberación de dicha solución por la dentina. El *Enterococos faecalis* es

resistente al desbridamiento mecánico y a los medicamentos antibacterianos utilizados comúnmente, como el hidróxido de calcio. Parsons et al. (1980), Leonardo et al. (1999), White et al. (1997), concuerdan al afirmar que la clorhexidina posee un excelente potencial como agente antibacterial intraconducto.

En el estudio realizado por Parsons et al. (1980), pulpa y dentina bovina fueron tratadas con soluciones de clorhexidina al 0,2% y 1% por 20 y 40 minutos respectivamente. En conclusión los especímenes utilizados adquirieron propiedades antibacterianas, y éstas se mantuvieron una semana después de realizado el procedimiento.

Leonardo et al. (1999) irrigaron con clorhexidina al 2% durante la instrumentación de 22 conductos radiculares de incisivos y molares, confirmando la actividad antimicrobiana de esta solución y sus efectos residuales 48 horas después de la instrumentación.

El estudio de White et al. (1997) revela que la clorhexidina continúa liberándose entre 48 y 72 horas después de la instrumentación. De las concentraciones utilizadas, 2%, 0,2% y 0,12%, la clorhexidina al 2% mantuvo la actividad antimicrobiana por más tiempo. Aunque desde el punto de vista estadístico esta diferencia no fue significativa, otros autores (Delany et al., 1982) reportaron un remanente de microorganismos dentro de los conductos irrigados con clorhexidina al 0,2%, sugiriendo este hecho que una concentración mayor sería preferible⁴⁶.

TÉCNICAS DE ESTUDIO MICROBIOLÓGICO EN ENDODONCIA ³⁵

El diagnóstico microbiológico permite identificar el o los agentes etiológicos implicados en la infección pulpar y también determinar el grado de esterilidad del conducto radicular previo a su obturación. Los métodos para el diagnóstico microbiológico en endodoncia son el examen directo y el cultivo.

Examen Directo

Se extiende una muestra en un portaobjetos, se fija y se tiñe con distintas técnicas, siendo la más frecuente la tinción Gram. Luego puede observarse con distintos tipos de microscopios. Sólo permite saber si la muestra está o no contaminada²⁷.

Cultivo³⁵

Actualmente, la toma de muestras microbiológicas no se realiza en la práctica endodóntica de manera sistemática. Se indicaría realizar un cultivo para pacientes con procesos endodónticos resistentes al tratamiento endodóntico convencional, y pacientes inmunodeprimidos, para identificar y tratar focos primarios de infección. Debe seleccionarse el medio de transporte idóneo para la muestra. Para evitar la contaminación de ésta, se realiza aislamiento absoluto, y se lava el conducto radicular con peróxido de hidrógeno al 30-35%, y un minuto después se lava con suero fisiológico. Con una pinza estéril se toma el cono de papel estéril, y se introduce en el conducto. Debe llegar al tercio apical y permanecer ahí un minuto. Luego se retira y se introduce en el medio de transporte. Se toman dos muestras por conducto³⁵.

MÉTODOS BÁSICOS PARA EL ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS⁴⁷.

El estudio de la sensibilidad de los microorganismos a los antimicrobianos es una de las funciones más importantes de los laboratorios de microbiología clínica. Su realización se desarrolla mediante las pruebas de sensibilidad o antibiograma, cuyo principal objetivo es evaluar en el laboratorio la respuesta de un microorganismo a uno o varios antimicrobianos, traduciendo, en una primera aproximación, su resultado como factor predictivo de la eficacia clínica. El antibiograma define la actividad in vitro de un antibiótico frente a un microorganismo determinado y refleja su capacidad para inhibir el crecimiento de una bacteria o población bacteriana. En el presente procedimiento se recogen los métodos básicos más utilizados y aceptados para el estudio de la sensibilidad.

Métodos de difusión⁴⁷:

A) Método del antibiograma disco-placa: El antibiograma disco-placa basado en el trabajo de Bauer, Kirby y colaboradores es uno de los métodos que el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) recomienda para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos. El antibiograma disco-placa consiste en depositar, en la superficie de agar de una placa petri previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel secante impregnados con los diferentes antibióticos. Tan pronto el disco impregnado de antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar. El antibiótico difunde radialmente a través del espesor del agar a partir del disco formándose un gradiente de

concentración. Transcurridas 18-24 horas de incubación los discos aparecen rodeados por una zona de inhibición. La concentración de antibiótico en la interfase entre bacterias en crecimiento y bacterias inhibidas se conoce como concentración crítica y se aproxima a la concentración mínima inhibitoria (CMI) obtenida por métodos de dilución. Para determinar la CMI de una cepa se procede a medir el diámetro de la zona de inhibición y luego extrapolarlo en el gráfico para obtener la CMI. Existen, por tanto, unos diámetros de inhibición, expresados en mm, estandarizados para cada antimicrobiano. La lectura de los halos de inhibición debe interpretarse como sensible (S), intermedia (I) o resistente (R) según las categorías establecidas por el NCCLS.

B) Método del Epsilon test⁴⁷: El principio de este método es una expansión de la técnica de difusión en disco. En el método E-test podemos, mediante lectura directa, determinar la concentración inhibitoria mínima (CMI). Consiste en una tira de plástico no poroso de 6 cm de largo por 5 mm de ancho que incorpora un gradiente predefinido de antimicrobiano equivalente a 15 diluciones. El protocolo para preparar el inóculo es el mismo que para la difusión en disco. Siguiendo el método de difusión, una vez inoculado la placa de agar con el microorganismo, se coloca la tira de E- test sobre su superficie, produciéndose de forma inmediata una difusión del antibiótico desde el soporte hasta el agar, creándose de este modo a lo largo de la tira un gradiente exponencial de las concentraciones del antimicrobiano. Tras la incubación de las placas, se puede observar una zona de inhibición elipsoidal y simétrica.

Después de la incubación la CMI será el valor obtenido en el punto en el que el extremo de inhibición intersecciona con la tira.

Patrones estándar de inhibición y punto de corte equivalente a la CMI para Enterococos							
GRUPO	Antimicrobiano	Carga del disco (ug)	Diámetro del halo de inhibición			Punto de corte Equivalente a la CMI (ug/ml)	
			Resistente	Intermedia	Sensible	Resistente	Sensible
A	Penicilina	10U	≤14	..	≥15	≥16	≤8
	Ampicilina	10	≤16	..	≥17	≥16	≤8
B	Vancomicina	30	≤14	15-16	≥17	≥32	≤4
	Teicoplanina	30	≤10	11-13	≥14	≥32	≤8
C	Eritromicina	15	≤13	14-22	≥23	≥8	≤0.5
	Gentamicina	120	6	7-9	≥10	≥500	≤500
	Estreptomicina	300	6	7-9	≥10
D	Ciprofloxacino	5	≤15	16-20	≥21	≥4	≤1
	Norfloxacino	10	≤12	13-16	≥17	≥16	≤4
	Nitrofurantoina	300	≤14	15-16	≥17	≥128	≤32
	Tetraciclina	30	≤14	15-18	≥19	≥16	≤4
	Fosfomicina	200	≤12	13-15	≥16	≥256	≤64

2.3 Definición de términos básicos

- **PROPÓLEO:** El propóleo es una sustancia resinosa, de color pardo rojizo o amarillo verdoso, producida por las abejas a partir de resinas vegetales que tiende a oscurecerse, contiene fundamentalmente cera y aceites esenciales, y es una sustancia muy compleja, soluble en alcohol. Una de las actividades más importantes del propóleo es su actividad antimicrobiana la cual se le atribuye básicamente a los flavonoides.
- **HIDRÓXIDO DE CALCIO:** El hidróxido de calcio $[Ca (OH)_2]$, ha sido y es intensamente utilizado en la práctica de la endodoncia, su pH es alcalino, lo que le permite ser magnifico bactericida.
- **CLORHEXIDINA:** Como irrigante endodóntico es utilizado al 0.12% o 2%, pero a diferencia de este, continua su liberación por un periodo de 48 a 72 horas posterior a la instrumentación, tanto así que puede servir como medicación intraconducto
- **ENTEROCOCCUS FAECALIS:** El Enterococcus Faecalis es una bacteria en forma de coco dispuesta en cadenas o pares, Gram positivas, anaerobias facultativa, inmóvil, no esporulada, que en años recientes, ha atraído la atención de diversos investigadores porque ha sido identificada como una causa frecuente de infección del sistema de conductos radiculares en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico.
- **HALOS DE INHBICIÓN:** El Halo de Inhibición se produce por una sustancia química producida por un microorganismo capaz de inhibir el desarrollo de otros microorganismos.

2.4 Formulación de Hipótesis

2.4.1 Hipótesis General

H_i: El efecto del Propóleo es mayor en comparación con el Hidróxido de calcio y la Clorhexidina al 2% sobre el Enterococcus Faecalis.

H₀: El efecto del Propóleo es menor en comparación con el Hidróxido de calcio y la Clorhexidina al 2% sobre el Enterococcus Faecalis.

2.4.2 Hipótesis Específicas

H1: El diámetro del halo de inhibición del Propóleo es mayor que el halo de inhibición de la Clorhexidina al 2% y del Hidróxido de calcio.

H₁₀: El diámetro del halo de inhibición del Propóleo es menor que el halo de inhibición de la Clorhexidina al 2% y del Hidróxido de calcio.

H2: El diámetro del halo de inhibición de la Clorhexidina al 2% es mayor que el halo de inhibición del Hidróxido de calcio.

H₂₀: El diámetro del halo de inhibición de la Clorhexidina al 2% es menor que el halo de inhibición del Hidróxido de calcio.

H3: El efecto en el tiempo de inhibición sobre el disco es mayor al utilizar las soluciones de Propóleo, Clorhexidina al 2% frente al Hidróxido de calcio.

H₃₀: El efecto en el tiempo de inhibición sobre el disco es menor al utilizar las soluciones de Propóleo, Clorhexidina al 2% frente al Hidróxido de calcio.

2.5 Identificación de variables

2.5.1 variable Independiente

- Tipo de solución in vitro

2.5.2 Variable Dependiente

- Tiempo de inhibición sobre disco
- Efecto sobre el Enterococcus Faecalis

2.6 Definición Operacional de Variables, Dimensiones e Indicadores

VARIABLE INDEPENDIENTE							
VARIABLE	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Escala	Categoría	Indicador	Fuente
TIPO DE SOLUCIÓN IN VITRO	Cualidad de una solución que consiste en eliminar o inhibir el crecimiento de bacterias patógenas que se desarrollan intraconducto	Solución antimicrobiana en una concentración	Propóleo 70%	Cualitativa Ordinal	. Resistente <=12 mm	Diámetro del halo de inhibición	Ficha de evaluación
			Hidróxido de calcio 0,2%	Cualitativa Ordinal	. Intermedia 13 mm – 16 mm	Diámetro del halo de inhibición	Ficha de evaluación
			Clorhexidina 2%	Cualitativa Ordinal	. Sensible >= 17 mm	Diámetro del halo de inhibición	Ficha de evaluación

VARIABLE DEPENDIENTE						
VARIABLE	Definición conceptual	Definición operacional	Escala	Categoría	Indicador	Fuente
Tiempo de inhibición sobre disco	Duración de inhibición del método Kirby Baver	Solución que elimina el Enterococcus faecalius	Cuantitativo	24/ 48/ 72 horas	Tiempo de incubación	Ficha de evaluación
Efecto sobre el Enterococcus faecalis	Efecto del patógeno a producir infecciones dentarias mixtas	Capacidad de inhibir el crecimiento y desarrollo del Enterococcus faecalius	Cuantitativo	17 mm de diámetro a más	Antibiograma	Ficha de evaluación

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1 Nivel y Tipo de investigación

NIVEL : Experimental

TIPO : Cuantitativo

3.2 Diseño y Método de la Investigación

- ✓ **Experimental:** porque se manipuló intencionalmente las condiciones de la investigación (variable independiente) y se analiza sus efectos sobre la variable dependiente.
- ✓ **In Vitro:** debido a que el estudio lo realizaremos en medios de cultivo que servirán para el desarrollo de las bacterias, manejados estos en laboratorio.
- ✓ **Comparativo:** por que compara la actividad antimicrobiana entre el hidróxido de calcio, Propóleo y Clorhexidina al 2%.

3.3 Determinación de la Población y Muestra

3.3.1 Población

Cepas de Enterococcus Faecalis

3.3.2 Muestra

Tipo de muestra

Muestreo no probabilístico intencional: Porque se delimita a través, de criterios de inclusión y exclusión.

Unidad de muestra

- Placas inoculadas con cepas de Enterococcus Faecalis

Unidad de análisis

- Halos de inhibición formados en las placas cultivadas con las cepas de Enterococcus Faecalis.

Criterios de Selección de datos:

➤ **Criterios de Inclusión:**

- ❖ Bacterias obtenidas de piezas dentales con retratamiento.
- ❖ Bacterias obtenidas en pacientes que presentan fracasos endodónticos.

➤ **Criterios de Exclusión:**

- ❖ Piezas dentales que hayan tenido contacto con algún tipo de medicamento o solución antimicrobiana.
- ❖ Piezas con patología inflamatoria
- ❖ Placas Petri que presenten contaminación previa o estén presentando un crecimiento que no corresponde a este tipo de bacterias a tratar.

3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

➤ PREPARADO DEL EXPERIMENTO

OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO

Se recolectó el propóleo y se almacenó en bolsas oscuras para su mejor conservación.

- Se llevó al laboratorio de Microbiología del HMC (Área de medios de Microbiología) para poder eliminar las impurezas (astillas, extremidades, tórax o alas de las abejas, así como de material de desecho).
- Se congeló la masa de Propóleo a temperatura de -20 A -40 °C por 48 a 72 horas.
- Con ayuda del mortero se procedió a triturar el propóleo.
- Se pesó la cantidad necesaria para obtener propóleo al 70% (70 gr de propóleo).
- La materia prima se traspasó a un frasco ámbar, se añadió 30 ml de solución etanólica, y se mantuvo en reposo durante 2 horas.
- Concluido el tiempo de reposo se colocó en un baño de agua a 38° C y se agitó constantemente de manera suave durante 15 minutos.
- Luego se maceró el propóleo por un periodo de 15 días en frasco color caramelo y se almacenó en un lugar fresco y seco, alejado de la luz.
- Terminado el proceso de maceración se pasó a filtrar a través de un papel de filtración rápida para luego mantenerlo en refrigeración por 24 horas.

➤ OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

SIEMBRA Y CULTIVO DE LAS CEPAS

- Los dientes se aislaron con diques de goma para evitar la contaminación con saliva que conduciría a resultados erróneos.
- Después se elaboró el acceso cameral, se retiró la gutapercha y se procedió a la limpieza de la porción radicular con suero fisiológico.
- Las muestras fueron recogidas con conos de papel absorbente estériles número 20 y 25, introducidos en el conducto radicular a la longitud de trabajo por un lapso de 60 – 90 segundos para conseguir una considerable suspensión de bacterias.
- Luego fueron sumergidas en condiciones asépticas en un caldo de cultivo nutritivo tioglicolato fluido que posteriormente fueron llevados al laboratorio de microbiología a la incubadora a 37° por un lapso de 48 horas.
- Se observó la presencia de la bacteria por la turbidez en el tubo que fue cultivada dicha cepa.
- Luego se procedió a sembrar en placas de agar Azide y series de bilis esculina con la ayuda de un asa de siembra estéril (por un lapso de 24 horas en el cual se observó el crecimiento de la bacteria).

➤ ANÁLISIS DE LA MUESTRA A LAS 24 horas, 48 horas y 72horas.

PRUEBA DE LA EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA.

- Se realizó el traspasó de la cepa del Enterococcus Faecalis a la solución salina estéril y a la estandarización de la cepa, según la escala de Mc Farland 0.08 para lo cual se utilizó un inóculo de colonias aisladas de Enterococcus Faecalis, esto sirvió para medir el número de bacterias por milímetro y sembrar el mismo porcentaje de bacterias en las placas de Müller Hilton, es decir un estándar de bacterias.
- Bajo condiciones estériles se procedió a la inoculación de la cepa de Enterococcus Faecalis en 15 placas Petri con Müller Hilton.
- Posteriormente con ayuda de la pipeta electrónica de 10ul se colocó las sustancias a estudiarse como el Propóleo, la Clorhexidina al 2%, y el Suero Fisiológico que es nuestro control negativo, el Hidróxido de calcio, se preparó a una proporción de 1-1 con suero fisiológico y luego se embebió en los discos blancos.
- Una vez colocadas las sustancias en los discos blancos se esperó de 20 a 30 minutos para la absorción adecuada de la sustancia, posteriormente estos discos embebidos con las sustancias se colocaron en las Placas Petri, previamente rotuladas.
- Posteriormente las placas se dejaron 15 minutos a temperatura ambiente para que se difunda el medicamento, transcurrido este tiempo se llevaron a la incubadora todas las muestras que se pusieron en forma invertida, por un periodo de 24 horas a 37°C.

- Una vez transcurrido el tiempo estipulado se observó el crecimiento de las bacterias en el Müller Hilton y los halos de inhibición formados, los cuales se procedió a medir y registrar cada uno de los halos formados (24h/ 48h/ 72h), con la ayuda de una regla vernier.

INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS:

Ficha N°1: “FICHA DE APLICACIÓN”: Elaborado por el investigador, donde los datos obtenidos en el laboratorio serán registrados.

3.5 Técnicas de procesamiento, análisis de datos

El procedimiento de recolección de datos:

Para el procesamiento de datos se utilizó el programa Microsoft Excel 2010, para ordenar los datos que luego fueron procesados dentro del programa estadístico SPSS2.2. (Statistical Package for the Social Sciences).

En el análisis estadístico para la contrastación de hipótesis se usó la prueba de Análisis de la varianza de un factor (ANOVA) y del Análisis Multivariante de la Varianza (MANOVA), conjuntamente con un análisis Post Hoc mediante la prueba TUKEY, lo cual estableció un intervalo de confianza del 95%. Y para comparar el efecto de las soluciones utilizadas sobre el *Enterococcus faecalis*, se usó Comparaciones múltiples de la Varianza de prueba Bonferroni.

Los resultados obtenidos fueron representados en cuadros y gráficos de acuerdo con los objetivos señalados.

3.6 Selección y validación de los instrumentos de Investigación

La ficha de recolección se validó por un juicio de Expertos conformada por el microbiólogo catedrático de la Universidad Científica del Sur y Jefe del servicio de Laboratorio Clínico del Hospital Militar Central LUIS ARIAS SCHREIBER, Elfer Valdivia Paz-Soldan; un especialista en endodoncia Jefe del servicio de Cariología y Endodoncia del Hospital Militar Central LUIS ARIAS SCHREIBER, Juan Julián Martínez; y un Magister en odontología de la Universidad Nacional Hermilio Valdizán, Miguel Nino Chávez Leandro.

CAPÍTULO IV

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

A. Análisis descriptivo univariado

Tabla 1. Grupo de estudio experimental (Estudio in vitro), Lima 2016.

Grupo de estudio	Frecuencia	Porcentaje
Experimental	45	75.00%
Control	15	25.00%
Total	60	100.00%

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.



Figura 1. Proporción del grupo de estudio experimental y control de la solución de suero fisiológico (Estudio in vitro), Lima 2016.

En la tabla 1 se observa dos grupos de estudio, el 75.0%(45) representa al grupo experimental; y el 25.0%(15) es el grupo control.

Tabla 2. Tipo de solución utilizado sobre el *Enterococcus faecalis* (Estudio in vitro), Lima 2016.

Tipo de solución in vitro	Frecuencia	Porcentaje
Propóleo	15	25.00%
Clorhexidina	15	25.00%
Hidróxido de calcio	15	25.00%
Suero fisiológico	15	25.00%
TOTAL	60	100.00%

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

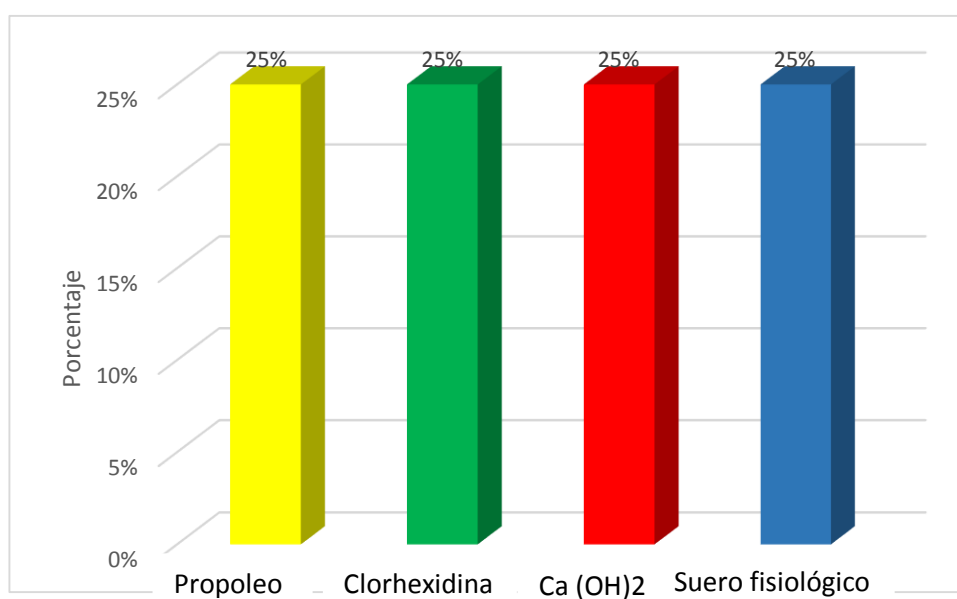


Figura 2. Distribución de las soluciones (Estudio in vitro) utilizadas frente al *Enterococcus faecalis*, Lima 2016.

En la tabla 2 se observa las soluciones de estudio, el 75.0%(45) representa al grupo experimental; y el 25.0%(15) es el grupo control.

Tabla 3. Diámetro del halo de inhibición de la solución de Propóleo utilizado sobre el *Enterococcus faecalis* (Estudio in vitro) 24/48/72 horas, Lima 2016.

Diámetro del halo de inhibición	Frecuencia	Porcentaje
Resistente ≤ 12 mm	0	0%
Intermedia 13 - 16 mm	0	0%
Sensible ≥ 17 mm	15	100%
Total	15	100.00%

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

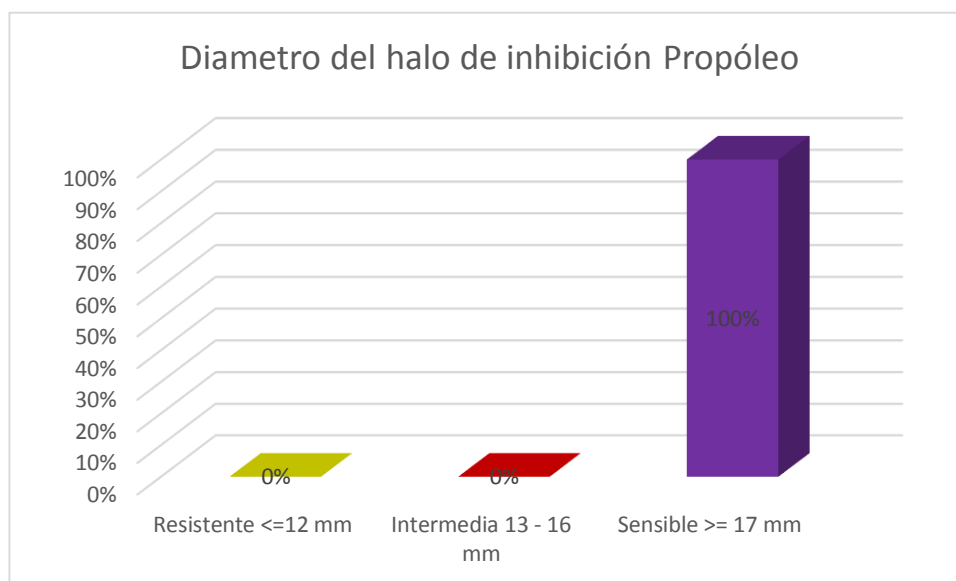


Figura 3. Proporción de la solución de Propóleo utilizadas frente al *Enterococcus faecalis* (Estudio in vitro), Lima 2016.

En la tabla 3 se observa el grupo de estudio propóleo, el 100.0%(15) representa al grupo experimental sensible al efecto de la solución.

Tabla 4. Diámetro del halo de inhibición de la solución de Clorhexidina utilizado sobre el *Enterococcus faecalis* (Estudio in vitro) 24/48/72 horas, Lima 2016.

Diámetro del halo de inhibición	Frecuencia	Porcentaje
Resistente ≤ 12 mm	0	0%
Intermedia 13 - 16 mm	0	0%
Sensible ≥ 17 mm	15	100%
Total	15	100.00%

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

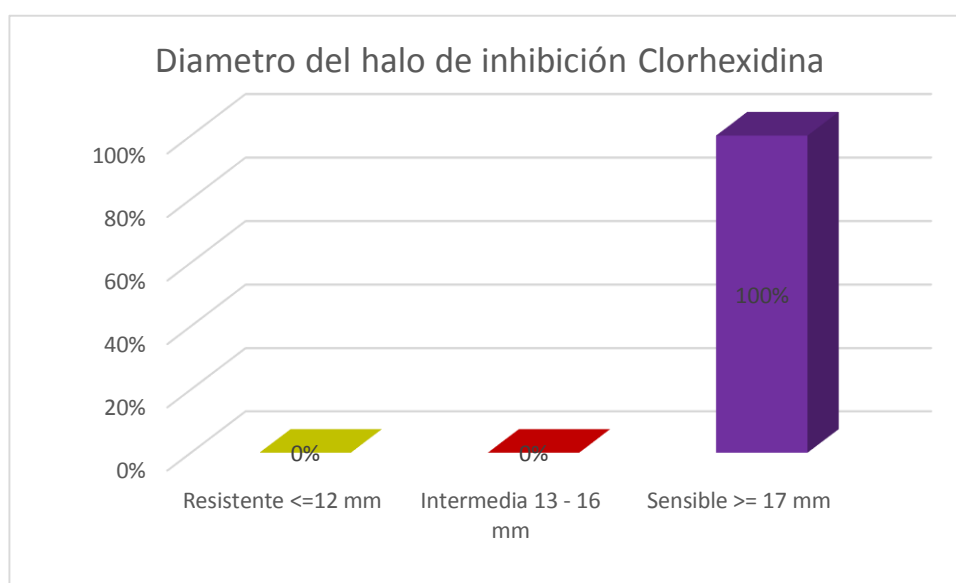


Figura 4. Proporción de la solución de Clorhexidina utilizadas frente al *Enterococcus faecalis* (Estudio in vitro), Lima 2016.

En la tabla 4 se observa el grupo de estudio clorhexidina, el 100.0%(15) representa al grupo experimental sensible al efecto de la solución.

Tabla 5. Diámetro del halo de inhibición de la solución de Hidróxido de calcio utilizado sobre el *Enterococcus faecalis* (Estudio in vitro) 24/48/72 horas, Lima 2016.

Diámetro del halo de inhibición	Frecuencia	Porcentaje
Resistente <=12 mm	15	100.0%
Intermedia 13 - 16 mm	0	0%
Sensible >= 17 mm	0	0%
Total	15	100.0%

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

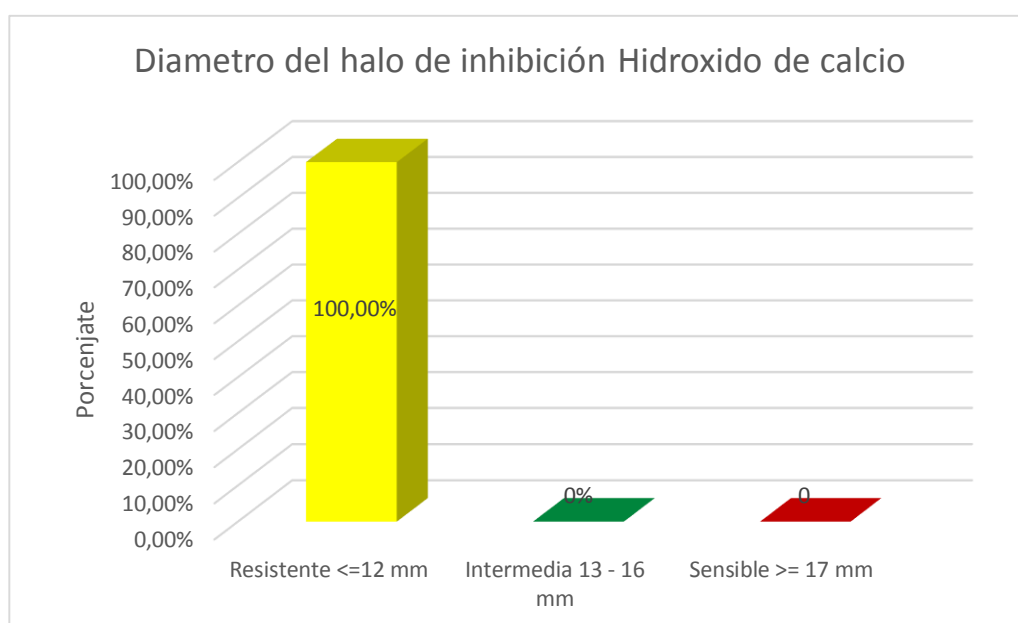


Figura 5. Proporción de la solución de Hidróxido de calcio 100.00% resistente utilizadas frente al *Enterococcus faecalis* (Estudio in vitro), Lima 2016.

En la tabla 5 se observa el grupo de estudio hidróxido de calcio, el 100.0%(15) representa al grupo experimental resistente al efecto de la solución.

Tabla 6. Diámetro del halo de inhibición de la solución de suero fisiológico utilizado sobre el *Enterococcus faecalis* (Estudio in vitro) 24/48/72 horas, Lima 2016

Diámetro del halo de inhibición	Frecuencia	Porcentaje
Sin efecto	15	100.00%
Total	15	100.00%

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

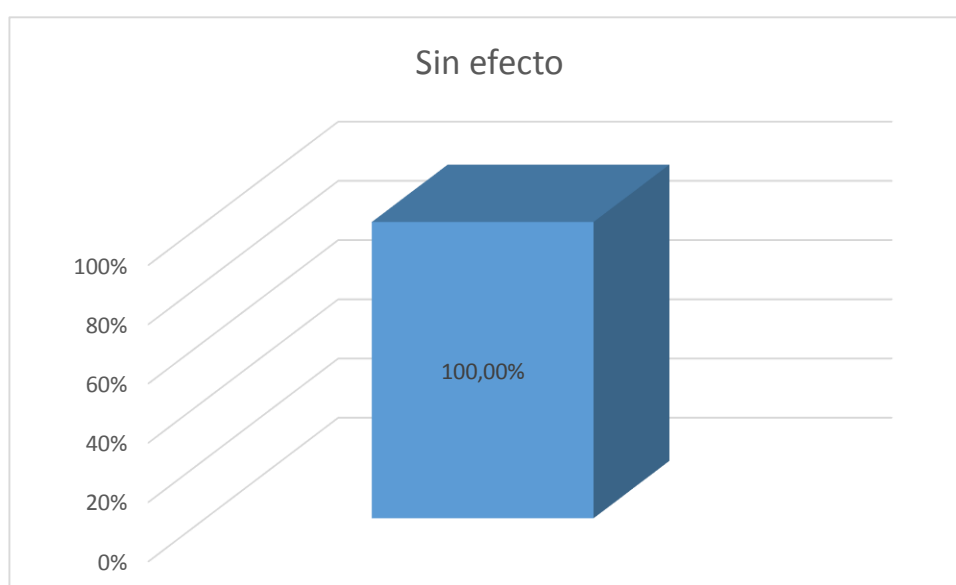


Figura 6. Proporción de la solución de suero fisiológico 100.0% sin efecto utilizada frente al *Enterococcus faecalis* (Estudio in vitro), Lima 2016.

En la tabla 6 se observa el suero fisiológico, el 100.0%(15) representa al grupo control sin efecto de la solución.

Tabla 7. Diámetro del halo de inhibición de la solución de propóleo utilizado sobre el *Enterococcus faecalis* (Estudio in vitro) 24 horas, Lima 2016.

Efecto sobre <i>Enterococcus faecalis</i> 24 horas		
Diámetro del halo de inhibición Sensible ≥ 17 mm	Frecuencia	Porcentaje
20	3	20.0
21	3	20.0
22	4	26.7
23	5	33.3
Total	15	100.00%

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

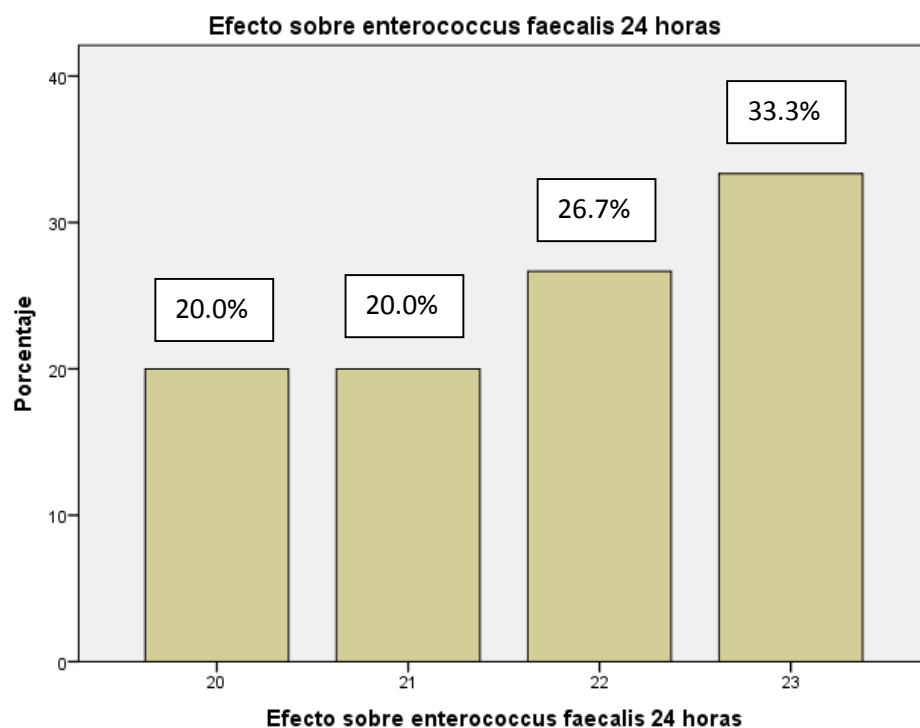


Figura 7. Proporción de la solución de Propóleo utilizadas frente al ***Enterococcus faecalis*** (Estudio in vitro), Lima 2016.

En la tabla 7 se observa la solución de propóleo, el 33.3%(5) representa diámetro de inhibición 23 mm, 26.7%(4) representa diámetro de inhibición 22 mm, 20%(3) representa diámetro de inhibición 21 mm y 20%(3) representa diámetro de inhibición 20 mm.

Tabla 8. Diámetro del halo de inhibición de la solución de Clorhexidina utilizado sobre el *Enterococcus faecalis* (Estudio in vitro) 24 horas, Lima 2016.

Efecto sobre <i>Enterococcus faecalis</i> 24 horas		
Diámetro del halo de inhibición Sensible ≥ 17 mm	Frecuencia	Porcentaje
19	5	33.3
20	4	26.7
21	5	33.3
22	1	6.7
Total	15	100.00%

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

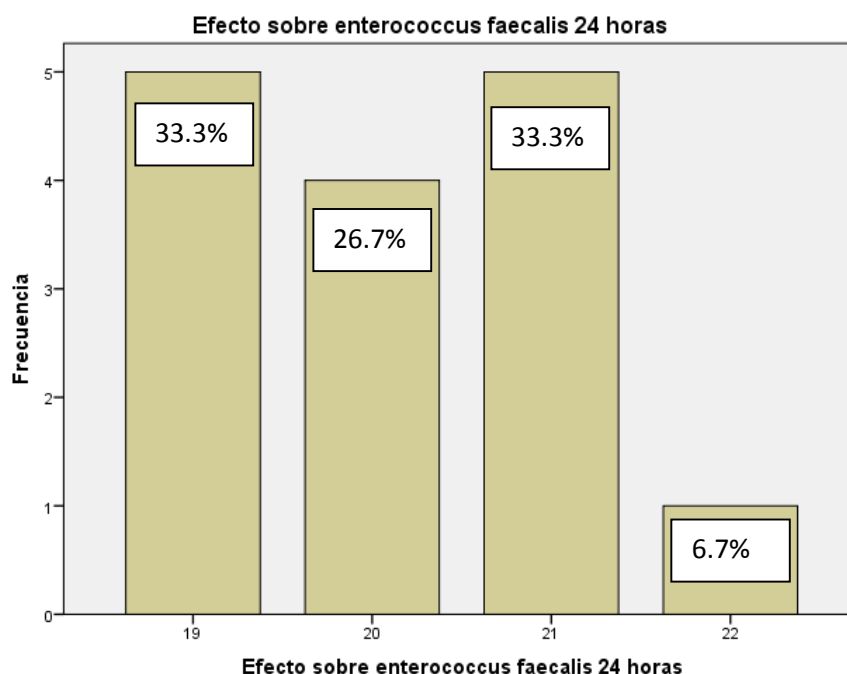


Figura 8. Proporción de la solución de clorhexidina utilizadas frente al *Enterococcus faecalis* (Estudio in vitro), Lima 2016.

En la tabla 8 se observa la solución de clorhexidina, el 33.3%(5) representa diámetro de inhibición 19 mm, 33.3%(5) representa diámetro de inhibición 21 mm ,26.7%(4) representa diámetro de inhibición 20 mm, y 6.7 %(1) representa diámetro de inhibición 22 mm.

Tabla 9. Diámetro del halo de inhibición de la solución de Hidróxido de Calcio utilizado sobre el Enterococcus faecalis (Estudio in vitro) 24 horas, Lima 2016.

Efecto sobre Enterococcus faecalis 24 horas		
Diámetro del halo de inhibición Resistente <= 12 mm	Frecuencia	Porcentaje
8	4	26.7
9	6	40
10	5	33.3
Total	15	100.00%

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

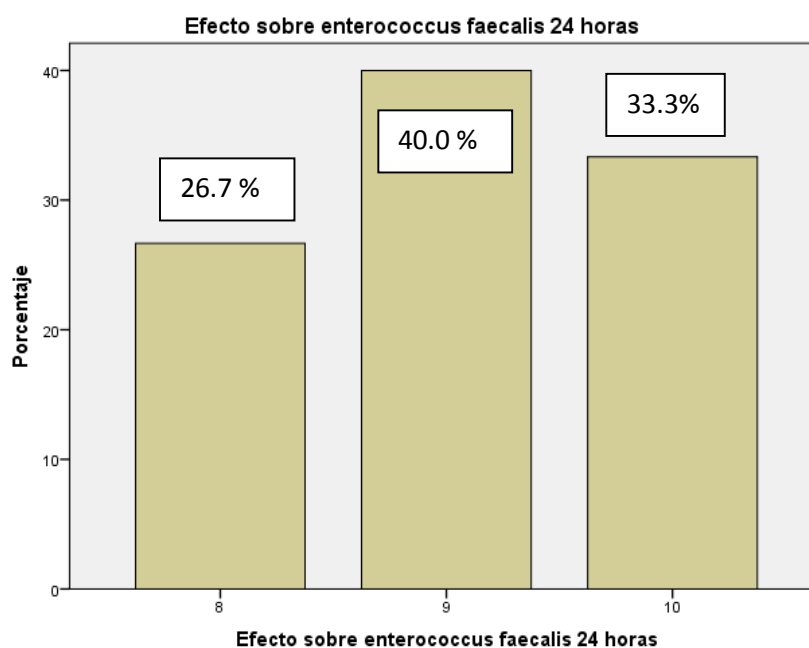


Figura 9. Proporción de la solución de Hidróxido de Calcio utilizadas frente al **Enterococcus faecalis** (Estudio in vitro), Lima 2016.

En la tabla 9 se observa la solución de hidróxido de calcio, el 40.0%(6) representa diámetro de inhibición 9 mm, 33.3%(5) representa diámetro de inhibición 10 mm y 26.7%(4) representa diámetro de inhibición 8 mm.

Tabla 10. Diámetro del halo de inhibición de la solución de Suero Fisiológico utilizado sobre el *Enterococcus faecalis* (Estudio in vitro) 24 horas, Lima 2016.

Efecto sobre <i>Enterococcus faecalis</i> 24 horas		
Diámetro del halo de inhibición	Frecuencia	Porcentaje
Sin efecto	15	100
Total	15	100.00%

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

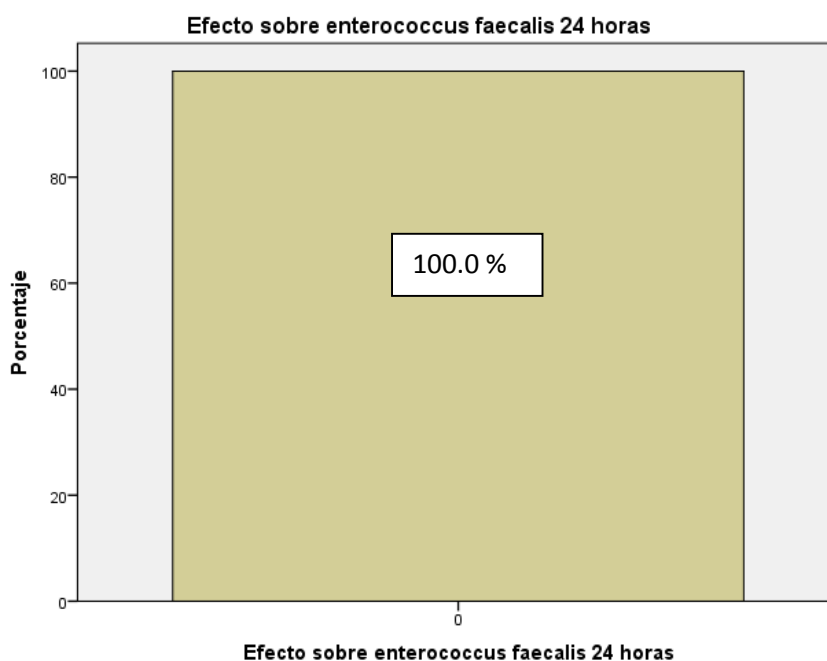


Figura 10. Proporción de la solución de Suero Fisiológico utilizadas frente al *Enterococcus faecalis* (Estudio in vitro), Lima 2016.

En la tabla 10 se observa la solución de suero fisiológico, el 100.0%(15) sin efecto.

Tabla 11. Diámetro del halo de inhibición de la solución de propóleo utilizado sobre el *Enterococcus faecalis* (Estudio in vitro) 48 horas, Lima 2016.

Efecto sobre <i>Enterococcus faecalis</i> 48 horas		
Diámetro del halo de inhibición Sensible ≥ 17 mm	Frecuencia	Porcentaje
21	3	20.0
22	4	26.7
23	8	53.3
Total	15	100.00%

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

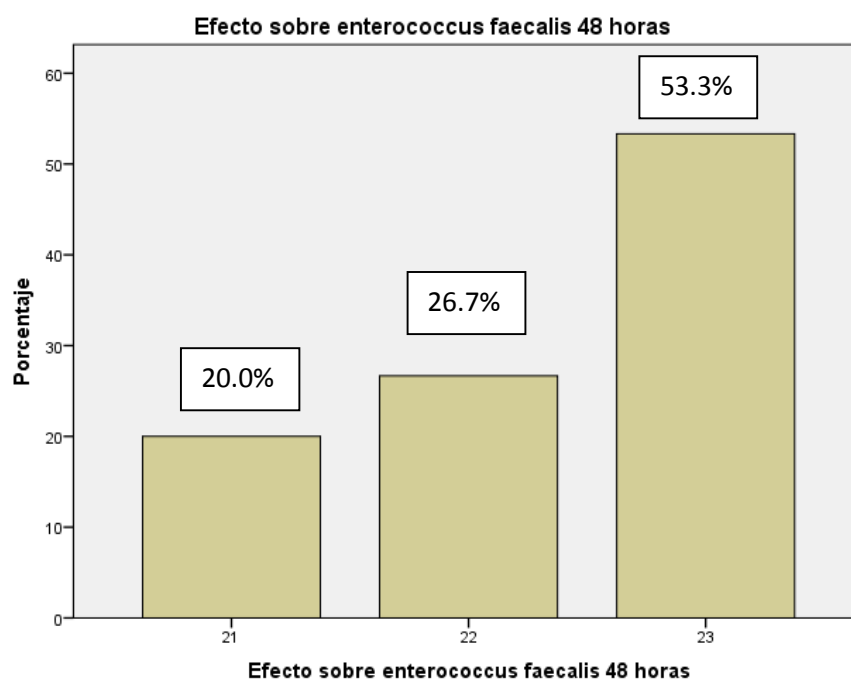


Figura 11. Proporción de la solución de Propóleo utilizadas frente al *Enterococcus faecalis* (Estudio in vitro), Lima 2016.

En la tabla 11 se observa la solución de propóleo, el 53.3%(8) representa diámetro de inhibición 23 mm, 26.7%(4) representa diámetro de inhibición 22 mm y 20.0%(3) representa diámetro de inhibición 21 mm.

Tabla 12. Diámetro del halo de inhibición de la solución de Clorhexidina utilizado sobre el Enterococcus faecalis (Estudio in vitro) 48 horas, Lima 2016.

Efecto sobre Enterococcus faecalis 48 horas		
Diámetro del halo de inhibición Sensible ≥ 17 mm	Frecuencia	Porcentaje
19	3	20
20	6	40
21	4	26.7
22	2	13.3
Total	15	100.00%

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

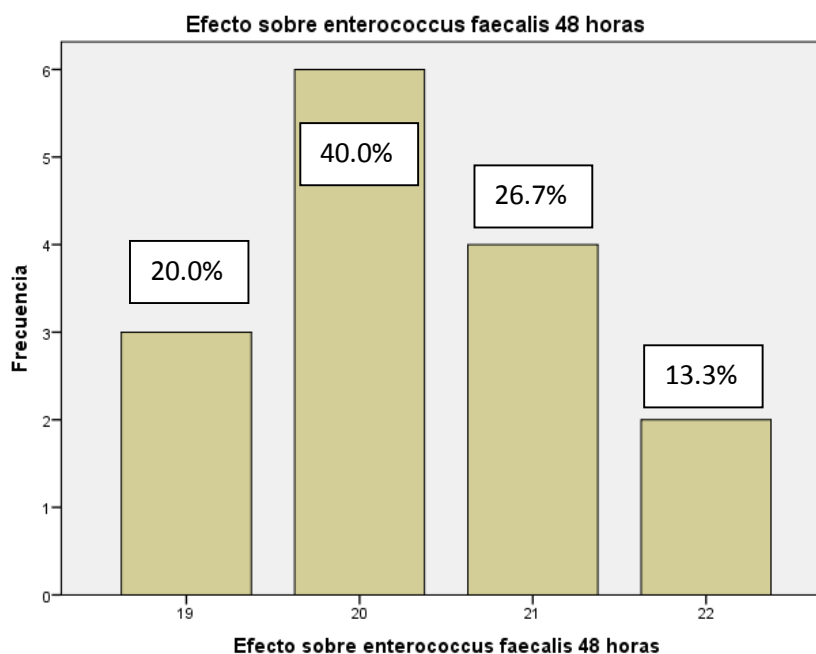


Figura 12. Proporción de la solución de clorhexidina utilizadas frente al **Enterococcus faecalis** (Estudio in vitro), Lima 2016.

En la tabla 12 se observa la solución de clorhexidina, el 40.0%(6) representa diámetro de inhibición 20 mm, 26.7%(4) representa diámetro de inhibición 21 mm ,20.0%(3) representa diámetro de inhibición 19 mm, y 13.3 %(2) representa diámetro de inhibición 22 mm.

Tabla 13. Diámetro del halo de inhibición de la solución de Hidróxido de Calcio utilizado sobre el *Enterococcus faecalis* (Estudio in vitro) 48 horas, Lima 2016.

Efecto sobre <i>Enterococcus faecalis</i> 48 horas		
Diámetro del halo de inhibición Resistente <= 12 mm	Frecuencia	Porcentaje
8	2	13.3
9	6	40
10	6	40
11	1	6.7
Total	15	100.00%

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.



Figura 13. Proporción de la solución de Hidróxido de Calcio utilizadas frente al *Enterococcus faecalis* (Estudio in vitro), Lima 2016.

En la tabla 13 se observa la solución de hidróxido de calcio, el 40.0%(6) representa diámetro de inhibición 10 mm, el 40.0%(6) representa diámetro de inhibición 9 mm ,13.3%(2) representa diámetro de inhibición 8 mm y 6.7%(1) representa diámetro de inhibición 11 mm.

Tabla 14. Diámetro del halo de inhibición de la solución de Suero Fisiológico utilizado sobre el *Enterococcus faecalis* (Estudio in vitro) 48 horas, Lima 2016.

Efecto sobre <i>Enterococcus faecalis</i> 48 horas		
Diámetro del halo de inhibición	Frecuencia	Porcentaje
Sin efecto	15	100
Total	15	100.00%

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

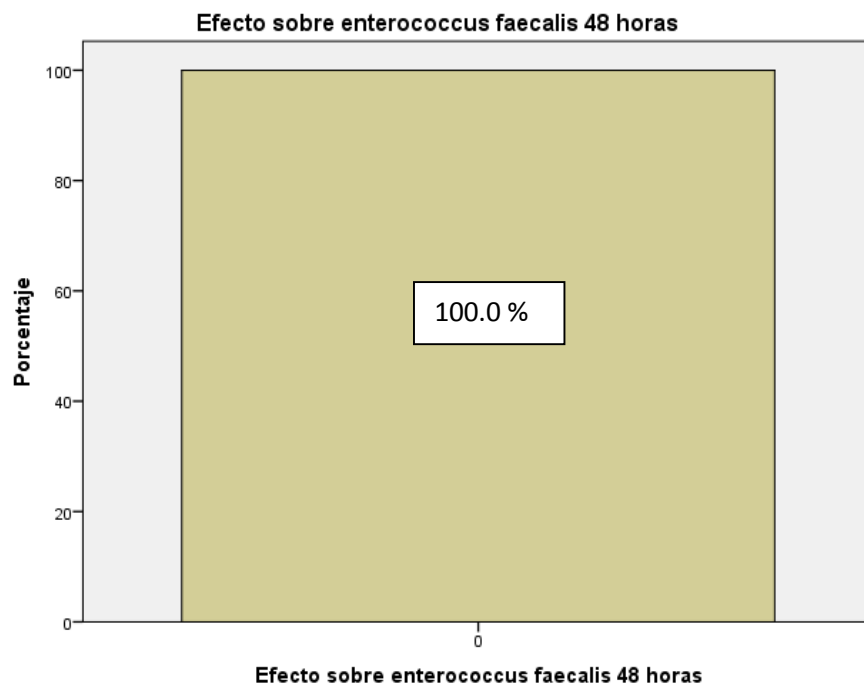


Figura 14. Proporción de la solución de Suero Fisiológico utilizadas frente al *Enterococcus faecalis* (Estudio in vitro), Lima 2016.

En la tabla 14 se observa la solución de suero fisiológico, el 100.0%(15) sin efecto.

Tabla 15. Diámetro del halo de inhibición de la solución de propóleo utilizado sobre el *Enterococcus faecalis* (Estudio in vitro) 72 horas, Lima 2016.

Efecto sobre <i>Enterococcus faecalis</i> 72 horas		
Diámetro del halo de inhibición Sensible ≥ 17 mm	Frecuencia	Porcentaje
22	4	26.7
23	11	73.3
Total	15	100.00%

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

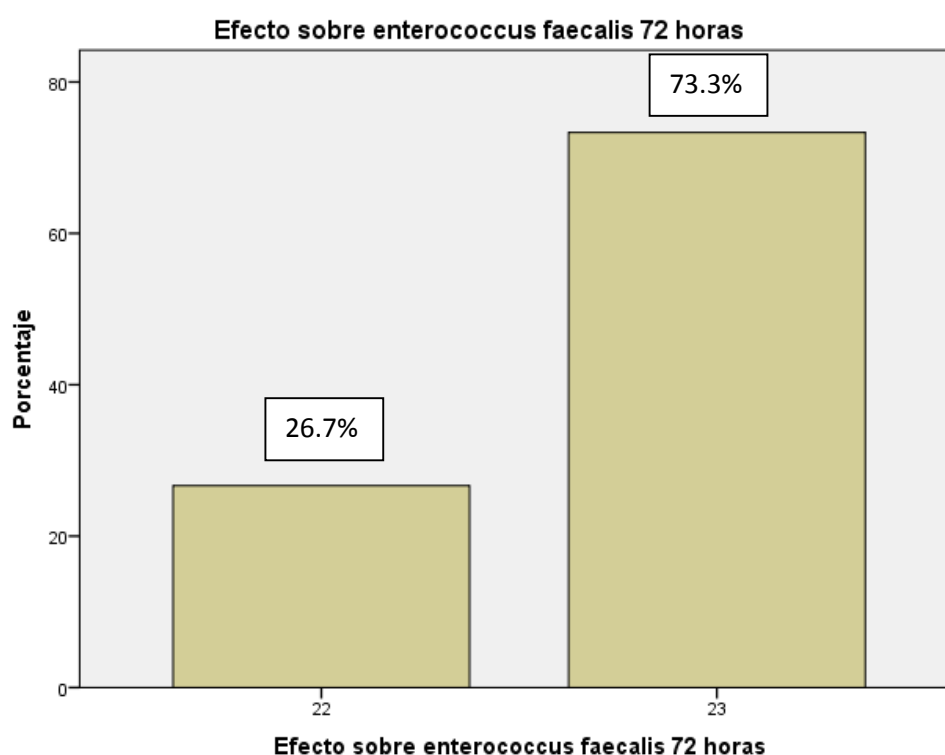


Figura 15. Proporción de la solución de Propóleo utilizadas frente al *Enterococcus faecalis* (Estudio in vitro), Lima 2016.

En la tabla 15 se observa la solución de propóleo, el 73.3%(11) representa diámetro de inhibición 23 mm y 26.7%(4) representa diámetro de inhibición 22 mm.

Tabla 16. Diámetro del halo de inhibición de la solución de Clorhexidina utilizado sobre el Enterococcus faecalis (Estudio in vitro) 72 horas, Lima 2016.

Efecto sobre Enterococcus faecalis 72 horas		
Diámetro del halo de inhibición Sensible \geq 17 mm	Frecuencia	Porcentaje
20	7	46.7
21	6	40
22	2	13.3
Total	15	100.00%

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

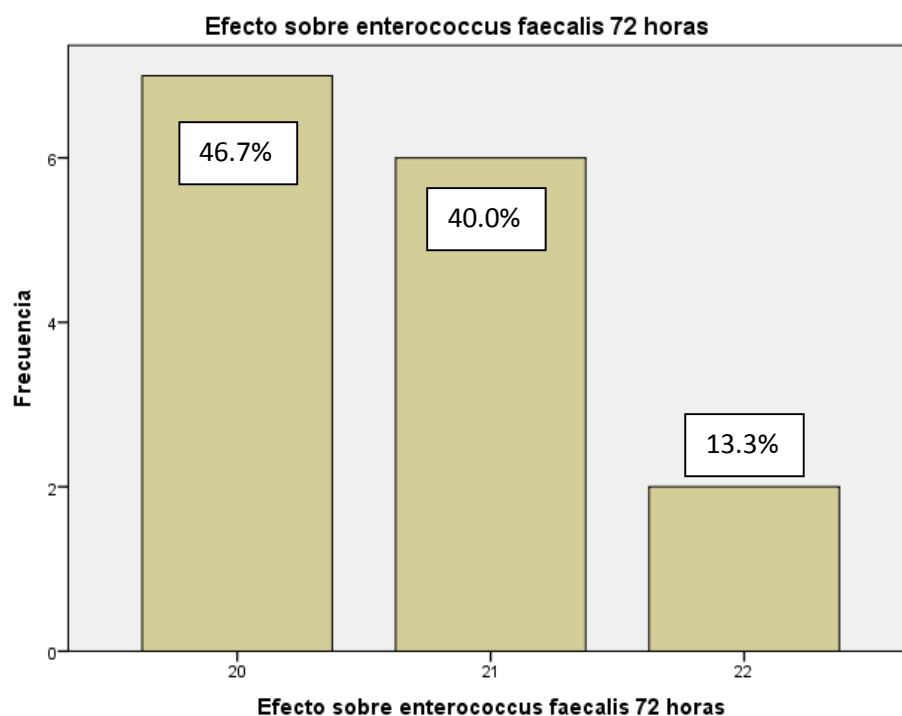


Figura 16. Proporción de la solución de Clorhexidina utilizadas frente al **Enterococcus faecalis** (Estudio in vitro), Lima 2016.

En la tabla 16 se observa la solución de clorhexidina, el 46.7%(7) representa diámetro de inhibición 20 mm, 40.0%(6) representa diámetro de inhibición 21 mm y 13.3%(3) representa diámetro de inhibición 22 mm.

Tabla 17. Diámetro del halo de inhibición de la solución de Hidróxido de calcio utilizado sobre el *Enterococcus faecalis* (Estudio in vitro) 72 horas, Lima 2016.

Efecto sobre <i>Enterococcus faecalis</i> 72 horas		
Diámetro del halo de inhibición Resistente <= 12 mm	Frecuencia	Porcentaje
8	2	13.3
9	3	20
10	9	60
11	1	6.7
Total	15	100.00%

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

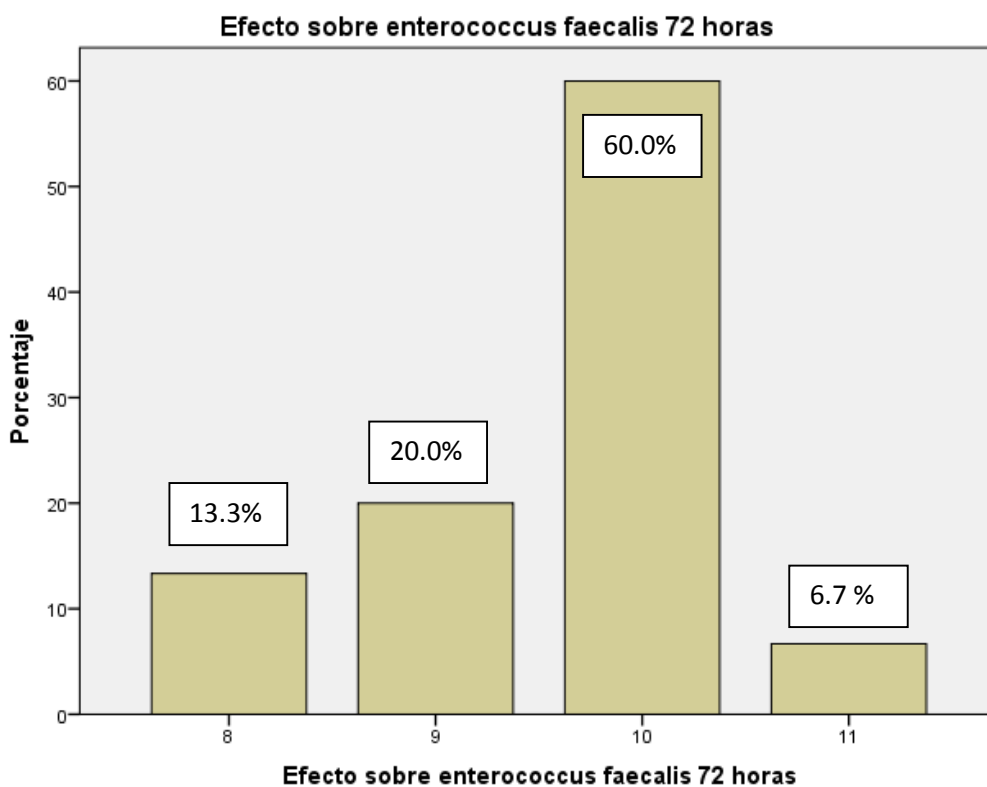


Figura 17. Proporción de la solución de Hidróxido de calcio 100.00% resistente utilizadas frente al *Enterococcus faecalis* (Estudio in vitro), Lima 2016.

En la tabla 17 se observa la solución de hidróxido de calcio, el 60.0%(9) representa diámetro de inhibición 10 mm, el 20.0%(3) representa diámetro de inhibición 9 mm ,13.3%(2) representa diámetro de inhibición 8 mm y 6.7%(1) representa diámetro de inhibición 11 mm.

Tabla 18. Diámetro del halo de inhibición de la solución de suero fisiológico utilizado sobre el *Enterococcus faecalis* (Estudio in vitro) 72 horas, Lima 2016

Efecto sobre <i>Enterococcus faecalis</i> 72 horas		
Diámetro del halo de inhibición	Frecuencia	Porcentaje
Sin efecto	15	100
Total	15	100.00%

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

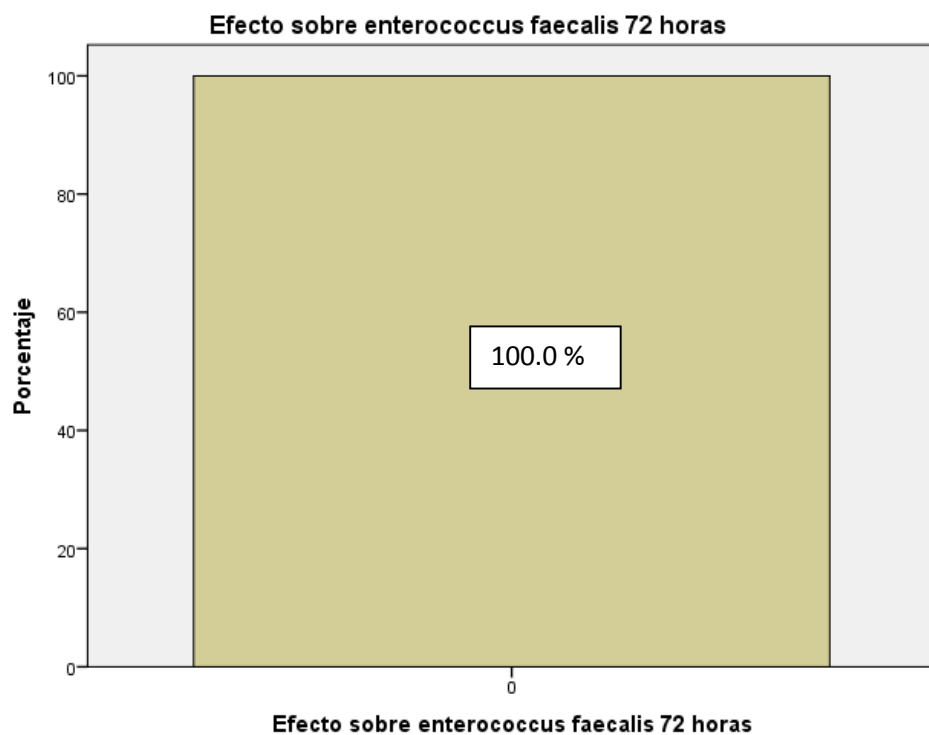


Figura 18. Proporción de la solución de suero fisiológico 100.0% resistente utilizadas frente al *Enterococcus faecalis* (Estudio in vitro), Lima 2016.

En la tabla 18 se observa la solución de suero fisiológico, el 100.0%(15) sin efecto.

B.- Análisis descriptivo bivariado

Tabla 19. Diámetro del halo de inhibición de las soluciones frente al tiempo de inhibición sobre el disco a las 24/48/72 horas utilizado sobre el *Enterococcus faecalis* (Estudio in vitro), Lima 2016.

Efecto sobre <i>Enterococcus faecalis</i>		Grupo de estudio				Total
		Propóleo	Clorhexidina	Hidróxido de Calcio	Suero Fisiológico	
0	N°	0	0	0	45	45
	%	0.00%	0.00%	0.00%	25.00%	25.00%
8	N°	0	0	8	0	8
	%	0.00%	0.00%	4.40%	0.00%	4.40%
9	N°	0	0	15	0	15
	%	0.00%	0.00%	8.30%	0.00%	8.30%
10	N°	0	0	20	0	20
	%	0.00%	0.00%	11.10%	0.00%	11.10%
11	N°	0	0	2	0	2
	%	0.00%	0.00%	1.10%	0.00%	1.10%
19	N°	0	8	0	0	8
	%	0.00%	4.40%	0.00%	0.00%	4.40%
20	N°	3	17	0	0	20
	%	1.70%	9.40%	0.00%	0.00%	11.10%
21	N°	6	15	0	0	21
	%	3.30%	8.30%	0.00%	0.00%	11.70%
22	N°	12	5	0	0	17
	%	6.70%	2.80%	0.00%	0.00%	9.40%
23	N°	24	0	0	0	24
	%	13.30%	0.00%	0.00%	0.00%	13.30%
Total	N°	45	45	45	45	180
	%	25.00%	25.00%	25.00%	25.00%	100.00%

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

En la tabla 19, se compara los grupos de estudio con el tiempo de inhibición sobre el disco.

En el 13.30%(24) el propóleo presenta un diámetro de inhibición sensible de 23 mm, 8,30%(15) de clorhexidina presenta un diámetro de inhibición sensible de 21 mm, 11,10%(20) hidróxido de calcio presenta un diámetro de inhibición resistente de 10 mm y 25.0%(45) suero fisiológico sin efecto alguno.

Tabla 20. Diámetro del halo de inhibición de la solución Propóleo frente al tiempo de inhibición sobre el disco a las 24/48/72 horas utilizado sobre el Enterococcus faecalis (Estudio in vitro), Lima 2016.

Efecto sobre el Enterococcus faecalis		Tiempo de inhibición sobre disco			Total
		24 horas	48 horas	72 horas	
20	N°	1	1	1	3
	%	2.2%	2.2%	2.2%	6.7%
21	N°	2	2	2	6
	%	4.4%	4.4%	4.4%	13.3%
22	N°	3	3	6	12
	%	6.7%	6.7%	13.3%	26.7%
23	N°	9	9	6	24
	%	20.0%	20.0%	13.3%	53.3%
Total	N°	15	15	15	45
		33.3%	33.3%	33.3%	100.0
	%				%

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

En la tabla 20, se compara el grupo de estudio con el tiempo de inhibición sobre el disco.

En la tabla 20 se observa la solución de propóleo a las 24 horas 20.0%(9) presenta un diámetro de inhibición sensible de 23 mm, a las 48 horas 20.0%(9) presenta un diámetro de inhibición sensible de 23 mm y 72 horas un 13.3%(6) presenta un diámetro de inhibición sensible de 23 mm.

Tabla 21. Diámetro del halo de inhibición de la solución Clorhexidina frente al tiempo de inhibición sobre el disco a las 24/48/72 horas utilizado sobre el Enterococcus faecalis (Estudio in vitro), Lima 2016.

Efecto sobre el Enterococcus faecalis		Tiempo de inhibición sobre disco			Total
		24 horas	48 horas	72 horas	
19	N°	5	3	0	8
	%	11.1%	6.7%	0.0%	17.8%
20	N°	6	5	6	17
	%	13.3%	11.1%	13.3%	37.8%
21	N°	4	4	7	15
	%	8.9%	8.9%	15.6%	33.3%
22	N°	0	3	2	5
	%	0.0%	6.7%	4.4%	11.1%
Total	N°	15	15	15	45
	%	33.3%	33.3%	33.3%	100.0%

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

En la tabla 21, se compara el grupo de estudio con el tiempo de inhibición sobre el disco.

En la tabla 21 se observa la solución de clorhexidina a las 24 horas 13.3%(6) presenta un diámetro de inhibición sensible de 20 mm, a las 48 horas 11.1%(5) presenta un diámetro de inhibición sensible de 20 mm y 72 horas un 15.6%(7) presenta un diámetro de inhibición sensible de 21 mm.

Tabla 22. Diámetro del halo de inhibición de la solución Hidróxido de calcio frente al tiempo de inhibición sobre el disco a las 24/48/72 horas utilizado sobre el Enterococcus faecalis (Estudio in vitro), Lima 2016.

Efecto sobre el Enterococcus faecalis		Tiempo de inhibición sobre disco			Total
		24 horas	48 horas	72 horas	
8	N°	1	3	4	8
	%	2.2%	6.7%	8.9%	17.8%
9	N°	8	3	4	15
	%	17.8%	6.7%	8.9%	33.3%
10	N°	6	7	7	20
	%	13.3%	15.6%	15.6%	44.4%
11	N°	0	2	0	2
	%	0.0%	4.4%	0.0%	4.4%
Total	N°	15	15	15	45
	%	33.3%	33.3%	33.3%	100.0%

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

En la tabla 22, se compara el grupo de estudio con el tiempo de inhibición sobre el disco.

En la tabla 22 se observa la solución de hidróxido de calcio a las 24 horas 17.8%(8) presenta un diámetro de inhibición resistente de 9 mm, a las 48 horas 15.6%(7) presenta un diámetro de inhibición resistente de 10 mm y 72 horas un 15.6%(7) presenta un diámetro de inhibición resistente de 10 mm.

Tabla 23. Diámetro del halo de inhibición de la solución Suero fisiológico frente al tiempo de inhibición sobre el disco a las 24/48/72 horas utilizado sobre el Enterococcus faecalis (Estudio in vitro), Lima 2016.

Efecto sobre el Enterococcus faecalis		Tiempo de inhibición sobre disco			Total
		24 horas	48 horas	72 horas	
Sin efecto	N°	15	15	15	45
	%	33.3%	33.3%	33.3%	100.0%
Total	N°	15	15	15	45
	%	33.3%	33.3%	33.3%	100.0%

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

En la tabla 23, se compara el grupo de estudio con el tiempo de inhibición sobre el disco.

En la tabla 23 se observa la solución de suero fisiológico a las 24, 48 y 72 horas 100.00%(45) sin efecto.

Tabla 24. Estadístico descriptivo del tipo de solución frente al efecto del Enterococcus faecalis, Lima 2016.

Variables de medición	Tipo de solución	N	Media	DE*	IC**95%	
					LI	LS
Efecto sobre el Enterococcus Faecalius	Propóleo	15	22.27	0.939	21.98	22.55
	hidróxido de calcio	15	9.36	0.830	9.11	9.60
	Clorhexidina	15	20.38	0.912	20.10	20.65
	suero fisiológico	15	0	0	0	0

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

Diámetro del halo de inhibición:

- Resistente: ≤ 12 mm

- Intermedia: 13 – 16 mm

- Sensible: ≥ 17 mm

*DE: desviación estándar

**IC: intervalo de confianza al 95%. LI: Límite inferior. LS: Límite superior

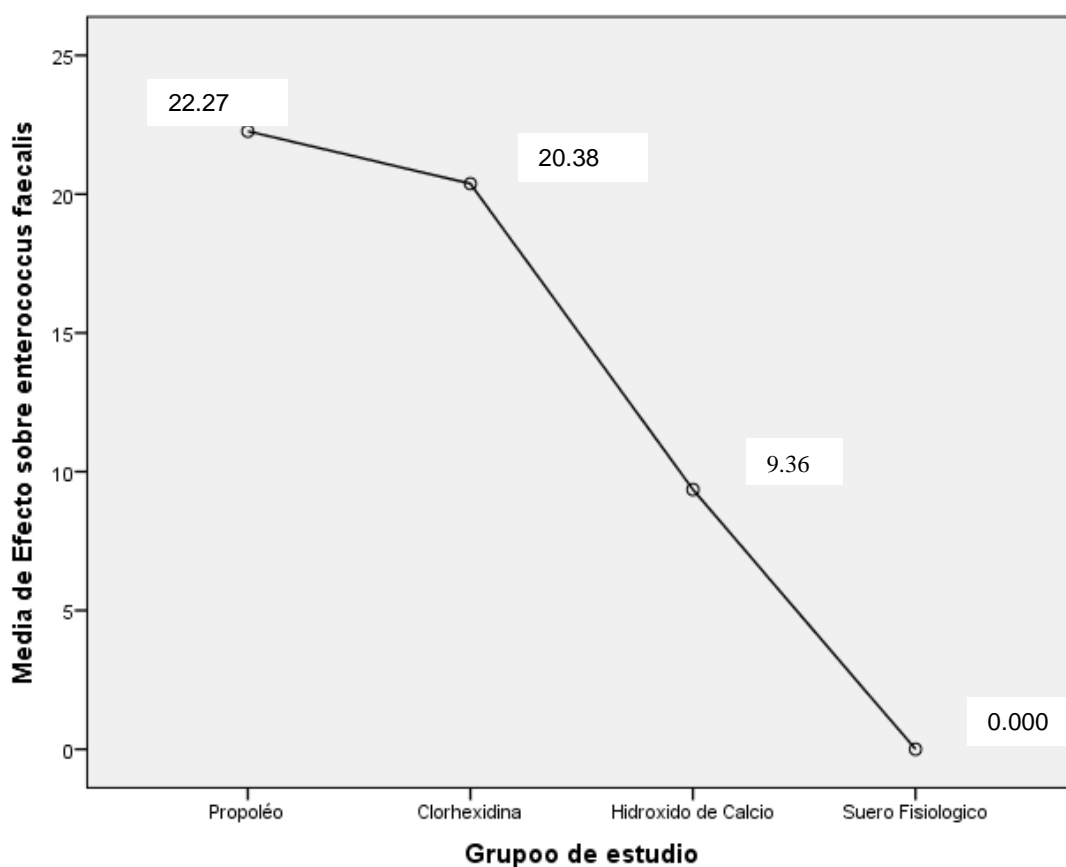


Figura 19. Estimación de medias marginales del efecto sobre el Enterococcus faecalis según tipo de solución utilizadas.

En la tabla 24, se aprecian los estadísticos de las variables efecto sobre el Enterococcus faecalis y tipo de solución in vitro utilizados en la incubación.

Comparando el efecto sobre el Enterococcus faecalis según los tipos de solución in vitro se observa que la bacteria de Enterococcus faecalis es sensible al usar Propóleo 22.27 m; con similar efecto la clorhexidina 20.38 m; 9.36 m al usar la solución de hidróxido de calcio y suero fisiológico no tuvo ningún efecto sobre la bacteria 0.000 m.

Por lo que existe mayor sensibilidad al utilizar propóleos seguido de la clorhexidina, el hidróxido de calcio muestra resistencia sobre el enterococcus faecalis, mientras en el grupo de control se usa suero fisiológico, el cual no tuvo ningún efecto sobre la bacteria.

Los datos indicados se aprecian en la figura. En un estudio similar se pueden obtener los mismos resultados considerando el intervalo de confianza al 95% (IC_{95%}) de cada tipo de solución.

Tabla 25. Estadístico descriptivo del tipo de solución frente al efecto del Enterococcus faecalis en tiempo de evaluación, Lima 2016.

Variables de medición	Tipo de solución	N	Media		
			24 horas	48 horas	72 horas
Efecto sobre el enterococcus faecalis y	Propóleo	45	21.73	22.33	22.73
	Clorhexidina	45	20.13	20.33	20.67
Tiempo de inhibición	hidróxido de calcio	45	9.07	9.40	9.60
	suero fisiológico	45	0	0	0

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

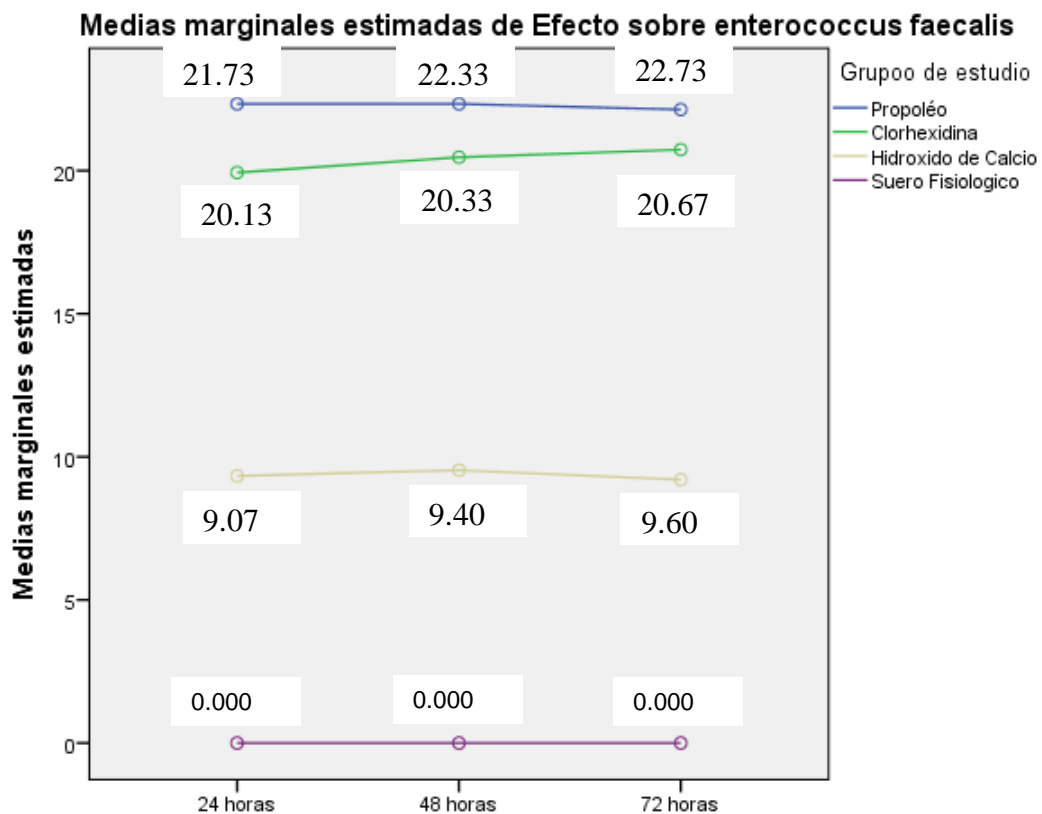


Figura 20. Estimación de medias marginales del efecto sobre el Enterococcus faecalis según tipo de solución utilizadas en tiempo de inhibición.

En la tabla 25, se aprecian los estadísticos de las variables efecto sobre el Enterococcus faecalis, tipo de solución en tiempo de inhibición.

A. Prueba de hipótesis

La contrastación de las hipótesis requirió el uso del estadístico de prueba de Análisis de la varianza de un factor (ANOVA) y del Análisis Multivariante de la Varianza (MANOVA), toda vez que estudio tiene dos variables dependientes (Tiempo de inhibición sobre el disco y efecto sobre el *Enterococcus faecalis*) y una variable independientes (tipo de solución in vitro). El nivel de confianza fue de 95% y error alfa 5%.

Tabla 26. Análisis de la varianza de un factor de tiempo de inhibición sobre el disco y efecto sobre el *Enterococcus faecalis* según tipos de solución in vitro en las unidades de estudio, Lima 2016.

		Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
EFECTO SOBRE EL ENTEROCOCCUS FAECALIS	Entre grupos	4650.533	2	2325.267	6314.302	0.000
	Dentro de grupos	15.467	42	0.368		
	Total	4666.000	44			
TIEMPO DE INHIBICION SOBRE DISCO	Entre grupos	0.000	2	0.000		
	Dentro de grupos	0.000	42	0.000		
	Total	0.000	44			

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

El ANOVA unifactorial indica que existen diferencias en el efecto sobre el *Enterococcus faecalis* al ser sometidos a los tipos de solución utilizados (F 6314.302 y p valor 0,000, el que es menor al 5% de error alfa). De la misma forma se aprecia que no existen diferencias en el tiempo de inhibición sobre disco al ser sometidos a los tipos de solución utilizados (F: ninguno y p valor ninguno); por lo que con una probabilidad de error del 0,0%, existen diferencias en el efecto sobre el *Enterococcus faecalis* y no existe diferencia en el tiempo de inhibición sobre disco en la utilización de los tipos de solución.

Sin embargo no se puede apreciar la diferencia precisa entre las variables de tratamiento y las variables de medición. Esto se aclara en la siguiente tabla 27.

Tabla 27. Comparaciones múltiples de la Varianza de prueba Bonferroni del efecto sobre el enterococcus faecalis según los tipos de solución utilizada en las unidades de estudio, Lima 2016.

Efecto sobre enterococcus faecalis		DM	ES	P	95% IC	
					LI	LS
Propóleo	Clorhexidina	1,889*	.163	.000	1.45	2.32
	Hidróxido de Calcio	12,911*	.163	.000	12.48	13.35
	Suero Fisiológico	22,267*	.163	.000	21.83	22.70
Clorhexidina	Propóleo	-1,889*	.163	.000	-2.32	-1.45
	Hidróxido de Calcio	11,022*	.163	.000	10.59	11.46
	Suero Fisiológico	20,378*	.163	.000	19.94	20.81
Hidróxido de Calcio	Propóleo	-12,911*	.163	.000	-13.35	-12.48
	Clorhexidina	-11,022*	.163	.000	-11.46	-10.59
	Suero Fisiológico	9,356*	.163	.000	8.92	9.79
Suero Fisiológico	Propóleo	-22,267*	.163	.000	-22.70	-21.83
	Clorhexidina	-20,378*	.163	.000	-20.81	-19.94
	Hidróxido de Calcio	-9,356*	.163	.000	-9.79	-8.92

+DM: Diferencia de medias

*ES: desviación estándar

**IC: intervalo de confianza al 95%. LI: Límite inferior. LS: Límite superior

Comparación del tipo de colutorio en el efecto sobre el Enterococcus faecalis.

La diferencia de medias muy significativa p valor ($p < 0.05$) en los tratatmientos.

Por lo que con una probabilidad del 0,0%,, existe diferencia al usar las soluciones de propóleo, clorhexidina, hidróxido de calcio y suero fisiológico.

En conclusión, se rechaza la primera **hipótesis general** nula (H_0) y se acepta la primera hipótesis de investigación (H_1). El efecto del propóleo es mayor en comparación con el hidróxido de calcio y clorhexidina al 2% sobre el *Enterococcus faecalis*.

Hipótesis específicas:

Se rechaza la hipótesis nula H_{10} y se acepta la H_1 de investigación. El diámetro del halo de inhibición de propóleo es mayor que el halo de inhibición de la clorhexidina al 2% y del hidróxido de calcio.

Se rechaza la hipótesis de nula H_{20} y se acepta la hipótesis investigación H_2 . El diámetro del halo de inhibición de la clorhexidina al 2% es mayor que el halo de inhibición del hidróxido de calcio.

Se rechaza la hipótesis nula H_{30} y se acepta hipótesis de investigación H_3 . El efecto en el tiempo de inhibición sobre el disco es mayor al utilizar las soluciones de propóleo, clorhexidina al 2% frente al hidróxido de calcio.

Tabla 28. Análisis de diferencias muy significativas (HSD) Tukey del tipo de colutorio en el efecto sobre el *Enterococcus faecalis* en las unidades de estudio, Lima 2016.

Variable de medición	Tipo de solución	N	Subconjunto			
			1	2	3	4
Efecto sobre el enterococcus faecalis	Suero Fisiológico	15	0.00			
	Hidróxido de Calcio	15		9.36		
	Clorhexidina	15			20.38	
	Propóleo	15				22.27
	P		1.000	1.000	1.000	1.000

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

En la tabla 28 , los subconjuntos formados evidencian que los grupos presentan diferencia, de esa forma se observa que el subconjunto 1 reúne al suero fisiológico , el subconjunto 2 al hidróxido de calcio, el subconjunto 3 clorhexidina y el subconjunto 4 propóleo, las medias de cada uno indica diferencias significativas en sus grupos (p valor: 1.000).

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

Muchas veces intentamos buscar nuevas alternativas que mejoren los resultados de la medicina moderna, es por ello que surge la necesidad de contar con nuevos principios activos que cumplan con los propósitos terapéuticos.

El presente estudio investigó la potencia antimicrobiana del Propóleo, debido a que existe aún incertidumbre sobre sus beneficios en la acción antibacterial específica. En este caso orientado a la especialidad de la Endodoncia, como medicamento intraconducto, ya que existen reportes que indican que su empleo resulta ser muy eficaz en la eliminación contra uno de los microorganismos más resistentes en la desinfección del conducto radicular, como es el *Enterococcus faecalis*, pero aún no corroborada convenientemente con muestras tomadas directamente del conducto radicular.

El *E. faecalis* es un coco grampositivo anaerobio facultativo que se encuentra en el 30% a 90% de los dientes tratados endodónticamente. La probabilidad de que se encuentre *E. faecalis* en un diente endodonciado es nueve veces mayor que en un diente con infecciones primarias³⁵.

En los resultados obtenidos, según el análisis descriptivo bivariado, el extracto etanólico de propóleo al 70% fue muy efectivo en la eliminación del *E. faecalis*, formando halos de sensibilidad sobre dichas cepas en un periodo de 24, 48 y 72 horas. La clorhexidina al 2% demostró gran capacidad para reducir la viabilidad de *E. faecalis*. Sin embargo, el hidróxido de calcio no tuvo la misma significancia pues

demonstró halos de inhibición resistentes frente al *Enterococcus Faecalis*, tales resultados son similares a los estudios de Carbajal J.³³, Sonam B. Ashwini T.²⁷

La solución de extracto etanólico de propóleo al 70%, para el uso como medicación intracanal, fue preparada en el laboratorio de Microbiología del Hospital Militar Central (Área de medios de Microbiología). En este estudio el extracto etanólico de propóleo al 70% presentó una gran efectividad antimicrobiana frente al *Enterococcus faecalis*. Otras investigaciones también revelan la efectividad antimicrobiana del propóleo en diferentes concentraciones, demostrando que a mayor concentración del propóleo, existe mayor efecto bacteriano. Como en los estudios realizados por Aguirre N.²¹, Alvarez M.³¹, y Reyes D.³²

El propóleo por tanto, demostró tener efecto antibacteriano frente al *Enterococcus faecalis*, formando halos de inhibición sensibles de 23 mm a las 24, 48 y 72 horas, sosteniendo este efecto a lo largo de la evaluación realizada.

En la aplicación de hidróxido de calcio sobre las placas inoculadas, la viabilidad de *E. faecalis* fue significativamente mayor, ya que presento halos de inhibición resistente de 9mm a las 24 horas y 10 mm a las 48 y 72 horas; Lo que demuestra un pobre efecto antimicrobiano del Hidróxido de calcio. Estos resultados coinciden con los estudios de Gonzalón L.²⁵, y Kim D. Kim E.²⁸

La clorhexidina al 2% presentó índices óptimos en la reducción de la viabilidad de *E. faecalis* al ser colocados en los discos dentro de las placas inoculadas con *Enterococcus faecalis*. Obteniéndose como resultados halos de inhibición sensibles de 20mm a las 24 y 48 horas y de 21 mm a las 72 horas. El buen desempeño antimicrobiano de la clorhexidina al 2% puede ser atribuido a su amplio espectro y

sustantividad lo que le convierten en un importante auxiliar en la desinfección. Como lo reafirma en su estudio Monardes H.³⁰

CONCLUSIONES

- El *Enterococcus Faecalis* fue más sensible al usar el Propóleo que presentó un diámetro de inhibición sensible de 23 mm, seguido de la Clorhexidina que presentó un diámetro de inhibición sensible de 21 mm, y del Hidróxido de Calcio que presentó un diámetro de inhibición resistente de 10 mm. Si bien es cierto los hallazgos demuestran ligera superioridad del uso de medicación con Propóleo respecto a la Clorhexidina, esta no muestra diferencia significativa en los estadísticos de Tukey.
- La solución de Propóleo presentó mayor actividad antibacteriana con promedios de halos de inhibición sensible de 23 mm a las 24, 48 y 72 horas.
- El Hidróxido de calcio presentó un diámetro de inhibición resistente de 9 mm a las 24 horas, un diámetro de inhibición resistente de 10 mm a las 48 y 72 horas.
- La Clorhexidina al 2% presentó un diámetro de inhibición sensible de 20 mm a las 24 y 48 horas, y presentó un diámetro de inhibición sensible de 21 mm a las 72 horas.
- El efecto del Propóleo es mayor en comparación con el Hidróxido de Calcio sobre el *Enterococcus Faecalis*, el cual se determinó haciendo uso de la prueba de Análisis de la varianza de un factor (ANOVA), y en las comparaciones múltiples de la Varianza de prueba Bonferroni.
- El efecto en el tiempo de inhibición sobre el disco es mayor al utilizar las soluciones de Propóleo, Clorhexidina al 2% frente al Hidróxido de calcio.

- Finalmente podemos concluir que existe mayor sensibilidad al utilizar Propóleo seguido de la Clorhexidina; en comparación con el Hidróxido de Calcio que muestra halos de inhibición resistente sobre el *Enterococcus Faecalis*.

SUGERENCIAS Y RECOMENDACIONES

- Se recomienda el uso de Propóleo en la terapia endodóntica como medicación intraconducto, ya que con este estudio se demostró la eficacia frente a una de los microorganismos más resistentes como es el caso del *Enterococcus Faecalis*.
- Para garantizar una antisepsia completa del conducto radicular se recomienda previo a la medicación con el extracto de propóleo una buena preparación biomecánica e irrigación, que aseguran el éxito del tratamiento.
- Para reducir el costo de inversión en el tratamiento, ya que el propóleo es un producto natural y de bajo costo.
- Para acortar el tiempo de permanencia de la medicación en el conducto radicular.
- El propóleo tiene además de ser antibacteriano otras propiedades que deben ser estudiadas y aprovechadas por lo que se recomienda seguir investigando.
- Se recomienda seguir realizando nuevas investigaciones con otros productos naturales que mejoren los resultados de nuestros tratamientos y reduzcan los efectos adversos.
- Se recomienda realizar una investigación en pacientes, para ampliar esta experiencia, tomando como base los resultados de esta investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bueno R. Manual de Endodoncia. Parte 2. Historia de la Endodoncia. Rev Oper Dent Endod [Internet]. 2006 [Citado 8 Oct 2016]; 5(1):21. Disponible en: http://www.infomed.es/rode/index.php?option=com_content&task=view&id=83&Itemid=1
2. Álamo J. Guardia S. Mendoza R. Guerra L. Efectividad de tres irrigantes sobre el número de colonias de Enterococcus faecalis en la preparación de conductos radiculares in vitro. Rev Kiru [Internet]. 2015 [Citado 8 Oct 2016]; 12(1): 8-12. Disponible en: http://www.usmp.edu.pe/odonto/servicio/2015/Kiru_12-1_v_p8-12.pdf
3. Cámara M. Estudio in vitro de la efectividad de las distintas técnicas de irrigación en la eliminación del enterococcus faecalis.[Tesis Doctoral].Universidad Complutense de Madrid;2016.
4. Jara M. Evaluación de la Acción Antibacteriana de dos pastas a base de Hidróxido de Calcio sobre el Enterococcus Faecalis.[Tesis Postgrado]. Universidad nacional Mayor de San Marcos;2013.
5. Padilla M. Roncal R. Efecto In Vitro de la Medicación Intraconducto Hidróxido De Calcio con Omeprazol frente al crecimiento bacteriano de Enterococcus Faecalis.[Tesis de Pregrado].Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo;2014.
6. Canalda C. Brau E. Endodoncia técnicas Clínicas y Bases Científicas. 2º Ed. España: Editorial Elsevier; 2006.
7. Millones P. Aplicación De Productos Naturales En Odontología. [Tesis de Posgrado].Universidad Católica de los Angeles de Chimbote; 2015.

8. Cardentey J. Empleo de la medicina natural y tradicional en el tratamiento estomatológico. Rev Arch Med Camaguey. [Internet]. 2015 [Citado 19 Feb 2017]; 19(3): 316-321. Disponible en: <http://scieloprueba.sld.cu/pdf/amc/v19n3/amc140315.pdf>
9. Bustamante M. Quiñónez B. Efectividad del Propóleo en Tratamientos Pulpares de Pulpotomía y Pulpectomía. Rev. Acta Bioclinica [Internet]. 2017 [Citado 3 May 2017]; 7(13): 178-201. Disponible en: <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/8089-26104-1-PB.pdf>
10. Navarro S. Lezcano R. Mandri M. Gili M. Zamudio M. Utilización del propóleos en Odontología. RAAO [Internet]. 2016 [Citado 3 May 2017]; 55(2): 19-22. Disponible en: <http://www.ateneo-odontologia.org.ar/articulos/lv02/articulo2.pdf>
11. Onetto D. Correa V. Araya P. Yévenes I. Neira M. Efecto del ultrasonido endodóntico sobre la clorhexidina al 2 % en la formación del Paracloroanilina. Estudio In vitro. Revi Clin de Periodoncia Implantol Rehabil Oral [Internet]. 2015 [Citado 12 Oct 2016]; 8(3): 185-191. Disponible en: http://ac.els-cdn.com/S0718539115000634/1-s2.0-S0718539115000634-main.pdf?_tid=847e2fba-1bd8-11e6-bcc9-00000aab0f02&acdnat=1463452923_6f44628f4a3f8ff642d96edaafb1c313
12. Wais J. Anaya L. Filtración bacteriana In Vitro, de conductos radiculares con y sin medicación intracanal. Rev Kiru [Internet]. 2006 [Citado 09 Jun 2016]; 3(2): 55-59. Disponible en: <http://www.usmp.edu.pe/odonto/servicio/2006rv2/kiru2006v3n2art3.pdf>

13. Soares I. Goldberg F. Endodoncia Técnica y Fundamentos. 2º Ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2002
14. Bermudez I. Estudio comparativo entre el hipoclorito de sodio y la clorhexidina como agentes irrigadores bactericidas en el tratamiento de conductos radiculares en dientes in vitro. [Tesis de Pregrado].Universidad de Guayaquil; 2013.
15. Rocafuerte J. Hidróxido de calcio químicamente puro y su relación clínica con diferentes tipos de solventes. . [Tesis de Pregrado].Universidad de Guayaquil; 2014.
16. Rao S. Manasa N. Effect of irrigants using ultrasonics on intracanal calcium hydroxide removal – an in vitro comparative evaluation. Braz J Oral Sci. [Internet].2012 [Citado 09 Jun 2016]; 11(1): 52-55. Disponible en: <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/BrazJOralSci-2011-Vol11-Issue1-p52-5.pdf>
17. Peña B. Análisis de la acción de la Clorhexidina e hidróxido de calcio químicamente puro como medicamentos intraconductos en dientes con necrosis pulpar. [Tesis de Pregrado].Universidad de Guayaquil; 2012.
18. Tristán J. Goldaracena M. Ramírez C. González A. Ramírez J. Efecto antimicrobiano de una solución de superoxidación con pH neutro para desinfección de cavidades clase I. Revista ADM [Internet].2015 [Citado 09 Jun 2016]; 72 (4): 189-197. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2015/od154e.pdf>

19. Premoli G. Laguardo P. Díaz N. Romero C. Villarreal J. González A. Uso del propóleo en odontología. Acta odontológica Venezolana [Internet]. 2010 [Citado 10 Jul 2016]; 48(2): 1-13 Disponible en: <http://www.actaodontologica.com/ediciones/2010/2/pdf/art22.pdf>
20. Zambrano S. Salcedo D. Petkova M. Ventocilla M. Biofilm en Endodoncia: Una Revisión. Rev Odontol. Sanmarquina [Internet].2016 [Citado 02 May 2017]; 19 (2): 45-49. Disponible en: [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/12918-45011-2-PB%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/12918-45011-2-PB%20(2).pdf)
21. Aguirre N. Acción antimicrobiana para inhibir el Enterococcus faecalis: Análisis in vitro de dos medicamentos de uso externo, Paramonoclorofenol y Propóleo. [Tesis de Pregrado].Universidad Central del Ecuador; 2015.
22. Del Carpio C. Molina M. Eficacia in vitro del cemento obturador Sealer 26 asociado a amoxicilina más Ácido Clavulánico y Sealer 26 puro sobre el crecimiento de Actinomyces Odontolyticus y Enterococcus Faecalis. Arequipa. 2014. Rev. estomatol. Altiplano [Internet].2014 [Citado 02 May 2017]; 1 (2): 63-70. Disponible en: <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/82-229-1-PB.pdf>
23. Rodriguez M. Actividad antibacteriana de cuatro soluciones del extracto de propoleo en bacterias anaerobias frecuentes en Necrosis Pulpar con reaccion periapical [Tesis De Pregrado]. Universidad nacional mayor de San Marcos facultad de Odontologia; 2007

24. Barragan T. Acción antibacteriana de la procaína al 2% más cafeína al 0.25% y del propóleo sobre cepas de enterococcus faecalis, como coadyuvante en la irrigación en el tratamiento de conducto. [Tesis de Pregrado]. Universidad Central del Ecuador; 2015.
25. Gonzalón L. Estudio comparativo in vitro del efecto antibacteriano como medicamento intraconducto entre el hidróxido de calcio y el extracto de propóleo sobre el enterococcus faecalis. [Tesis de Pregrado]. Universidad Central Del Ecuador; 2015.
26. Pimenta H. Violante I. Musis C. Borges Á. Aranh A. In vitro effectiveness of Brazilian brown Propolis against Enterococcus faecalis. Braz Oral Res [Internet]. 2015 [Citado 02 Oct 2016]; 29(1):1-6. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/bor/v29n1/1807-3107-bor-29-1-1807-3107BOR-2015vol290058.pdf>
27. Sonam B. Ashwini T. An in vitro evaluation of antimicrobial efficacy of 2% chlorhexidine gel, propolis and calcium hydroxide against enterococcus faecalis in human root dentin. . Rev. Journal of Clinical and Diagnostic Research [Internet]. 2014 [Citado 02 Jun 2016]; 8(11):60-63. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4290330/pdf/jcdr-8-111-ZC60.pdf>
28. Kim D. Kim E. Antimicrobial effect of calcium hydroxide as an intracanal medicament in root canal treatment: a literature review - part i. in vitro studies (2014). Review article [Internet]. 2014 [Citado 13 Set 2016]; 1(1):1-12. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4223092/pdf/rde-39-241.pdf>

29. Carrillo M. Castillo L. Mauricio R. Evaluación de la Actividad Antimicrobiana de Extractos de Propóleos de la Huasteca Potosina. Rev Inf. tecnol. [Internet]. 2011 [Citado 3 Oct 2016]; 22(5): 21-28. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642011000500004
30. Monardes H. Presencia de Enterococcus Faecalis en conductos radiculares infectados y su susceptibilidad frente a irrigantes y medicamentos de uso endodóntico. [Tesis de Posgrado]. Universidad de Talca; 2009.
31. Alvarez M. Efecto Antibacteriano In Vitro Del Extracto Etanólico De Propolis De Apis Mellífera (Propóleo) Frente A Enterococcus Faecalis Atcc 29212. [Tesis de Pregrado]. Universidad Privada Antenor Orrego; 2014.
32. Reyes D. Concentración mínima inhibitoria del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo sobre Enterococcus faecalis. [Tesis de Pregrado]. Universidad Nacional de Trujillo; 2011.
33. Carbajal J. Evaluación in vitro de la viabilidad de Enterococcus faecalis y Candida albicans en los túbulos dentinarios después de la aplicación de hidróxido de calcio, clorhexidina al 2% y extracto etanólico de propoleo al 0,8%, HMC-Lima 2009-2010. [Tesis de Pregrado]. Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión; 2010.
34. Solorzano D. Estudio comparativo in vitro sobre el efecto antibacteriano del extracto de propóleo, paramonoclorofenol alcanforado e hidróxido de calcio en necrosis pulpar [Tesis De Pregrado]. Universidad de Huánuco facultad de Odontología; 2011.

35. Universidad de Valparaíso. Microbiología en Endodoncia. Disponible en:
<http://www.postgradosodontologia.cl/endodoncia/images/EspecialidadEndodoncia/Seminarios/2013-2014/DocMicrobiologiaEnEndodoncia.pdf>
Consultado: 8 de Julio 2016.
36. Diaz M. Rodriguez C. Zhurbenko R. Aspectos fundamentales sobre el género enterococcus como patógeno de elevada importancia en la actualidad. Revista Cubana de Higiene y Epidemiología [Internet]. 2010 [Citado 13 Set 2016]; 48(2):147-161. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/hie/v48n2/hie06210.pdf>
37. Rodriguez C. Oporto G. Implicancias clínicas de la contaminación microbiana por Enterococcus faecalis en canales radiculares de dientes desvitalizados: revisión de la literatura. Revista Odontológica Mexicana [Internet]. 2015 [Citado 10 Jun 2016]; 19(3):181-186. Disponible en: http://ac.els-cdn.com/S1870199X15000233/1-s2.0-S1870199X15000233-main.pdf?_tid=af77e0de-5a95-11e6-b12c-00000aacb362&acdnat=1470351142_e16f36630b6c5f13ccd44328175d919f
38. Torabinejad M. Walton R. Endodoncia, principios y práctica. 4 ed. España: Editorial Elsevier; 2009.
39. Universidad de Valparaíso. Medicación intraconducto en Endodoncia. Disponible en:
<http://www.postgradosodontologia.cl/endodoncia/images/EspecialidadEndodoncia/Seminarios/2013-2014/DocMedicacionIntraconductoEnEndodoncia.pdf>
.Consultado: 8 de julio 2016

40. Universidad de Valparaíso. Medicación. Disponible en: <http://www.postgradosodontologia.cl/endodoncia/images/EspecialidadEndodoncia/Seminarios/2013-2014/DocMedicacion.pdf> Consultado: 8 de julio 2016
41. Gonçalves E. Efeitos in Vitro de Extratos Naturais Sobre Enterococcus faecalis, Staphylococcus aureus, Escherichia coli E Endotoxinas em Canais Radiculares. [Tesis de Posgrado]. Universidad Paulista; 2010.
42. Felitti R. Propóleo en Odontología. Usos y aplicaciones. Acta odontológica [Internet]. 2014; 11(1). Disponible en: <http://revistas.ucu.edu.uy/index.php/actasodontologicas/article/viewFile/967/959>
43. Preetika C. Vivek A. Saurabh D. Shamsher S. Complementary and Alternative Medicine (CAM): A Review of Propolis in Dentistry [Internet]. 2014; 2(6): 670-685. Disponible en: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.677.939&rep=rep1&type=pdf>
44. Reyes C. Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de propóleo peruano sobre cultivos de bacterias anaerobias frecuentes en pacientes con periodontitis crónica. [Tesis pregrado]. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2010
45. Vidal A. Evaluación de la citotoxicidad producida por distintas concentraciones de hidróxido de calcio sobre cultivos de fibroblastos. [Tesis pregrado]. Chile: Universidad de Talca; 2005.

46. Heredia J. Rodriguez S. Uso de la Clorhexidina en Endodoncia. Rev. IntraMed [Internet]. 2008; 93(3): 245 – 248. Disponible en: <http://www.intramed.net/contenidover.asp?contenidoID=44842>

47. Procedimientos en Microbiología Clínica. Métodos Básicos para el estudio de la sensibilidad. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>

ANEXOS

ANEXO 1

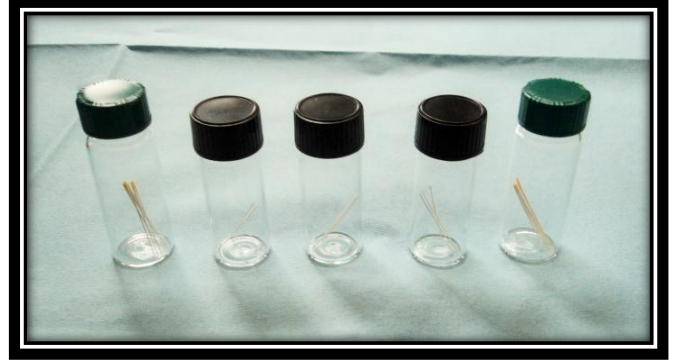
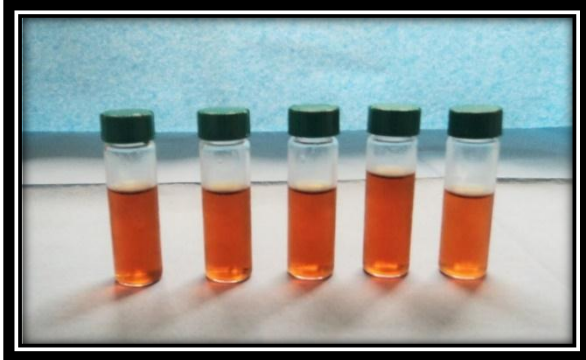
(Matriz de consistencia)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN	VARIABLES DEL ESTUDIO	METODOLOGÍA	INDICADORES
<p>PROBLEMA GENERAL: ¿Cuál es el efecto del Propóleo, Hidróxido de Calcio y Clorhexidina al 2% sobre el Enterococcus Faecalis, realizado en el Hospital Militar Central Coronel Luis Arias Schreiber; Lima-2016?</p> <p>PROBLEMAS ESPECÍFICOS:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ ¿Cuál será el diámetro del halo de inhibición de la solución de Propóleo sobre el Enterococcus Faecalis? ➤ ¿Cuál será el diámetro de halo de inhibición del hidróxido de calcio sobre el Enterococcus Faecalis? ➤ ¿Cuál será el diámetro de halo de inhibición de la Clorhexidina al 2% sobre el Enterococcus Faecalis? 	<p>OBJETIVO GENERAL: Determinar el efecto de la solución de Propóleo, Hidróxido de Calcio y clorhexidina al 2% sobre el Enterococcus Faecalis, realizado en el Hospital Militar Central Coronel Luis Arias Schreiber; Lima-2016.</p> <p>OBJETIVOS ESPECIFICOS:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Medir el diámetro de halo de inhibición de la solución de Propóleo sobre el Enterococcus Faecalis. ➤ Medir el diámetro de halo de inhibición del Hidróxido de Calcio sobre el Enterococcus Faecalis. ➤ Medir el diámetro de halo de inhibición de la Clorhexidina al 2% sobre el Enterococcus Faecalis. 	<p>HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN</p> <p>H_i: El efecto del Propoleo es mayor en comparación con el Hidróxido de calcio y la Clorhexidina al 2% sobre el Enterococcus Faecalis.</p> <p>H₀: El efecto del Propoleo es menor en comparación con el Hidróxido de calcio y la Clorhexidina al 2% sobre el Enterococcus Faecalis.</p>	<p>VARIABLE INDEPENDIENTE</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Tipo de solución in vitro <p>VARIABLE DEPENDIENTE</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Tiempo de inhibición sobre el disco. ➤ Efecto sobre el Enterococcus Faecalis 	<p>NIVEL Y TIPO DE INVESTIGACIÓN NIVEL: Experimental TIPO: Cuantitativo</p> <p>DISEÑO Y MÉTODO DE LA INVESTIGACIÓN</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Experimental. ✓ In Vitro. ✓ Comparativo. <p>POBLACIÓN</p> <p>Cepas de Enterococcus Faecalis</p> <p>MUESTRA Tipo de muestra: Muestreo no probabilístico intencional: Porque se delimita a través, de criterios de inclusión y exclusión.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Diámetro de halos de inhibición ➤ Tiempo de incubación ➤ Antibiograma

ANEXO 2

(Fotografías)

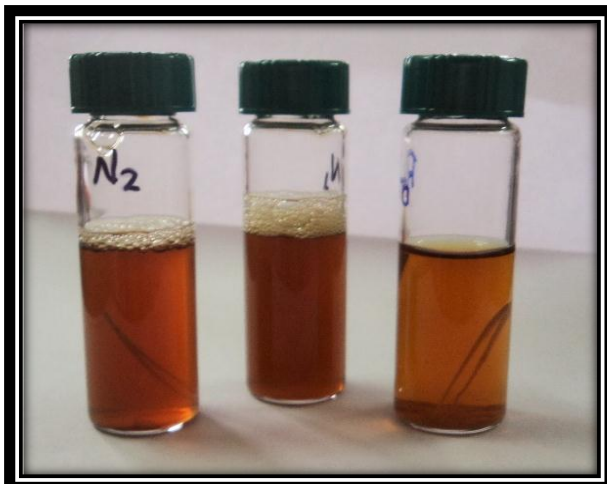
1. Caldo de cultivo nutritivo tioglicolato fluido y conos de papel estéril



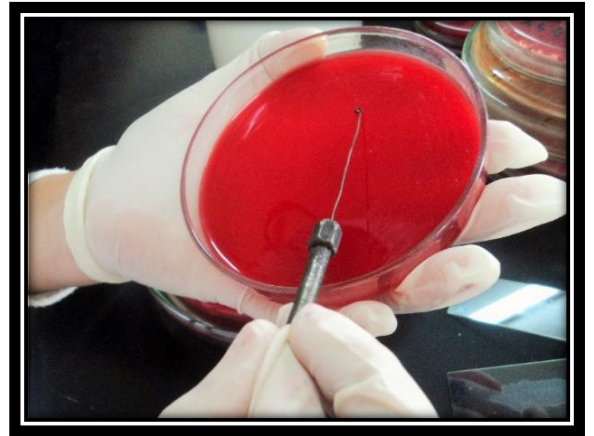
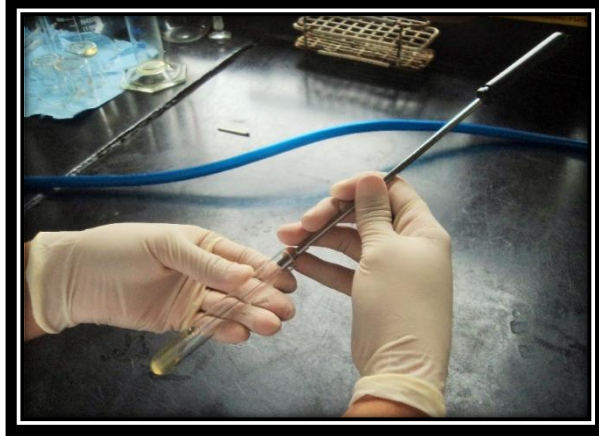
2. Obtención de la muestra



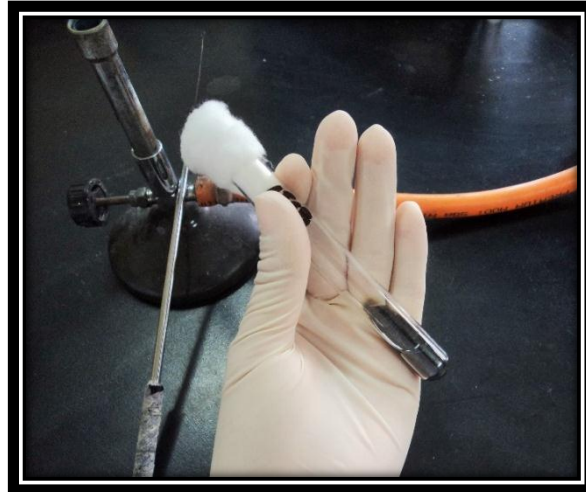
3. Presencia de la bacteria en el Caldo de cultivo nutritivo tioglicolato fluido después de 48 horas a 37°C



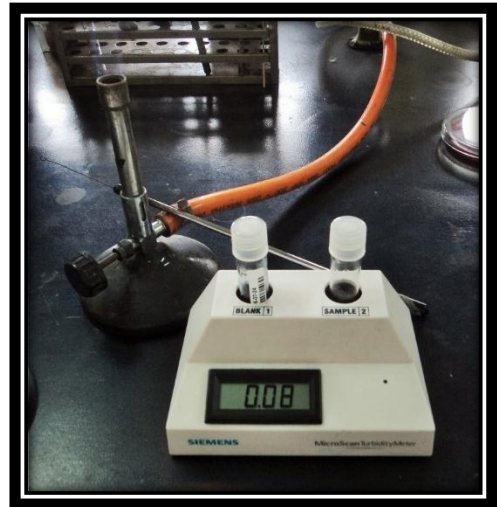
4. Siembra de la muestra en bilis esculina y placas de agar Azide con la ayuda de un asa de siembra estéril



5. Comprobación del *Enterococcus Faecalis* ,mediante el cambio de coloración en bilis esculina y el crecimiento de dicho microorganismo en placas de agar Azide en un lapso de 24 horas



6. Traspaso del *Enterococcus faecalis* de la placa de agar Azide a la solución salina estéril, y su estandarización en la escala de Mc Farland



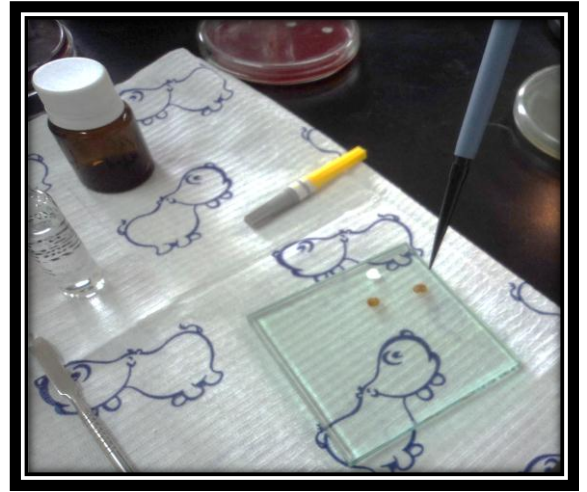
7. Inoculación del *Enterococcus Faecalis* en placas con Müller Hilton.



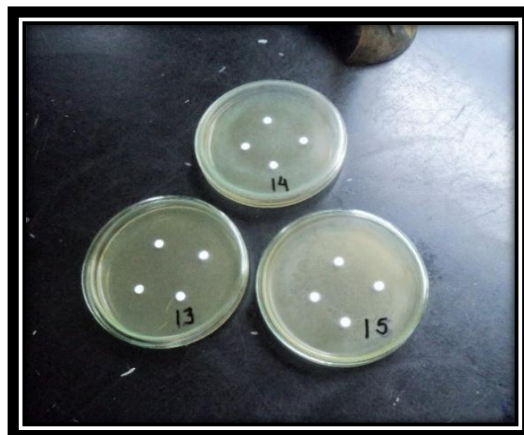
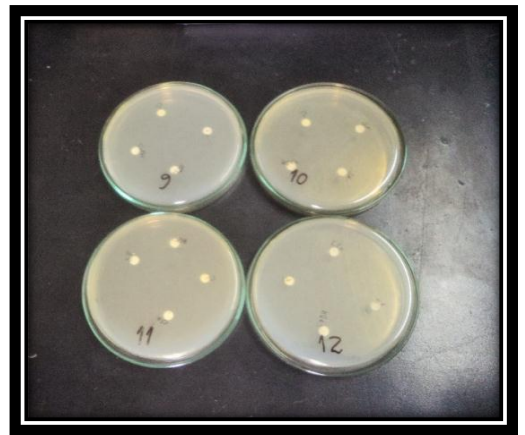
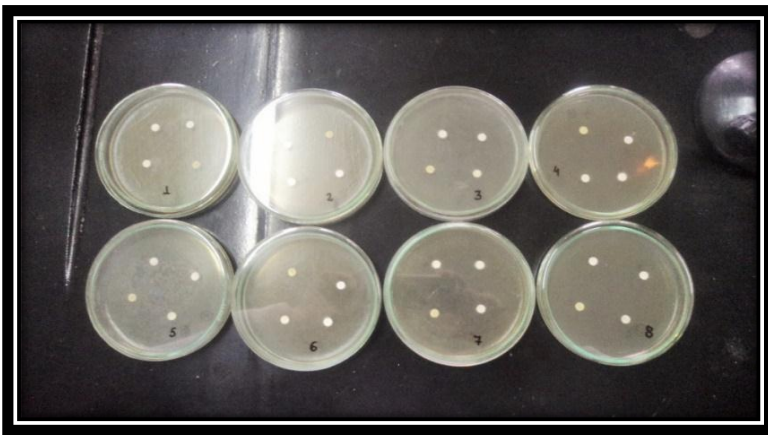
8. Materiales a utilizar



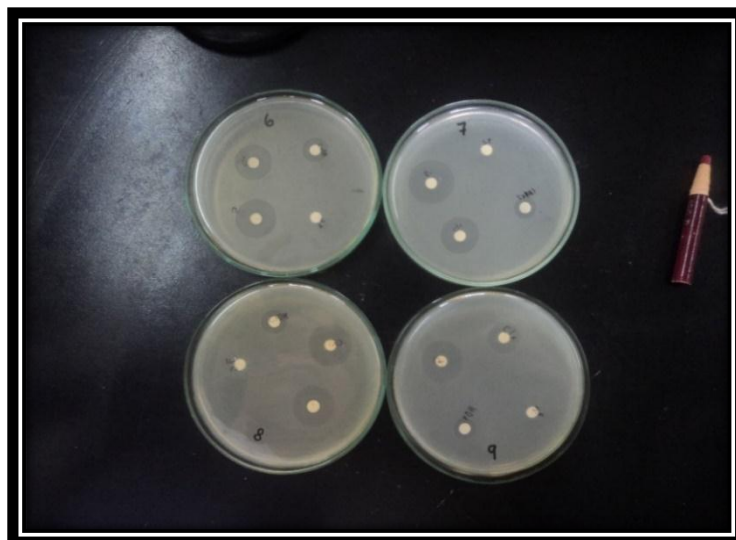
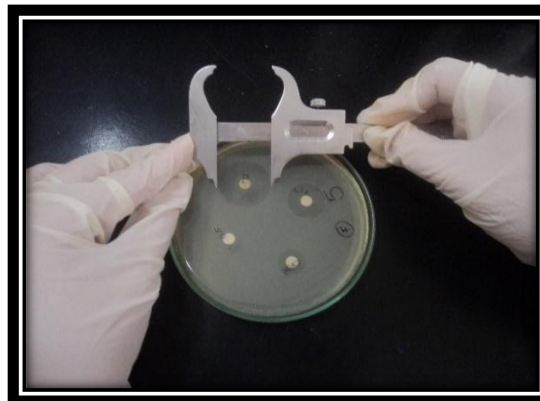
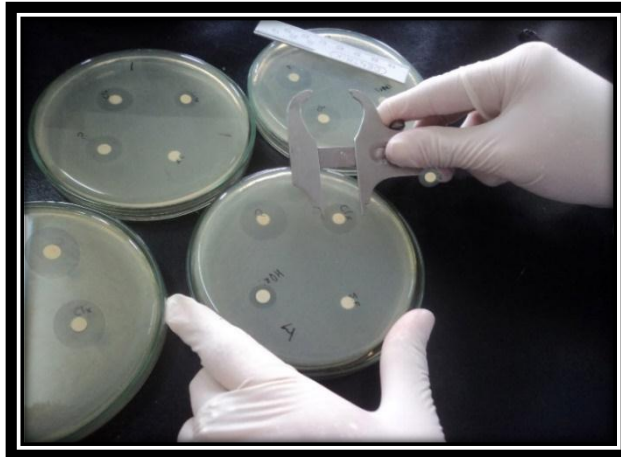
9. Preparación de los discos blancos con las sustancias de estudio: Propóleo, Clorhexidina al 2%, Hidróxido de calcio y Suero Fisiológico (control negativo)

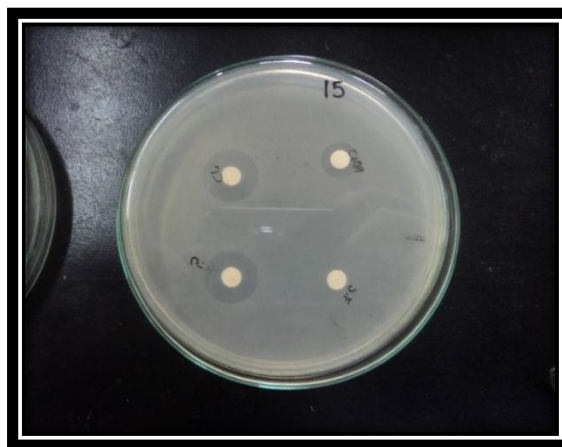
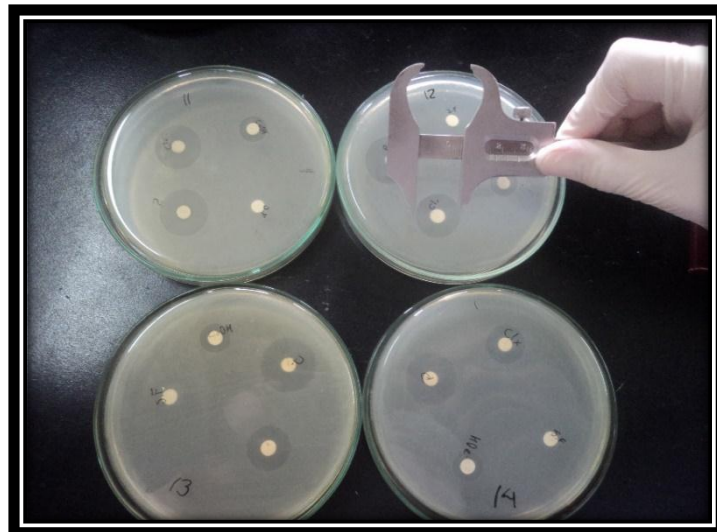
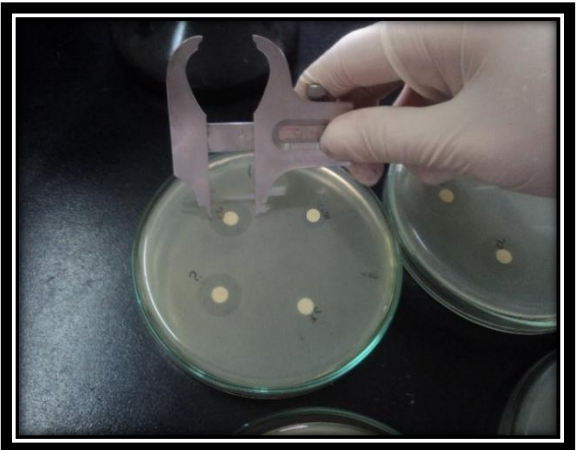
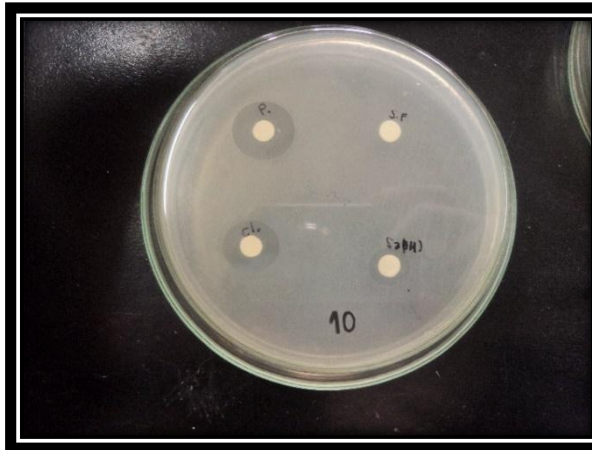


10. Colocación de los discos embebidos en medios de Agar Müller Hilton, con
previa rotulación de las placas



11. Después de colocar las placas en un ambiente anaerobio a 37° C por un periodo de 24 horas. Se observó el crecimiento de las bacterias en el Müller Hilton con los halos de inhibición formados, posteriormente se procedió a medir y registrar cada uno de los halos formados (24h/ 48h/ 72h), con la ayuda de una regla vernier.





ANEXO 3

(Validación de instrumento)

INFORME DE OPINIÓN DE EXPERTOS DE INSTRUMENTO DE INVESTIGACION

I. DATOS GENERALES:

1.1 Título de la Investigación:

**COMPARACIÓN DEL EFECTO ENTRE SOLUCIONES DE PROPÓLEO, HIDRÓXIDO DE CALCIO Y CLORHEXIDINA AL 2% SOBRE EL ENTEROCOCCUS FAECALIS (Estudio in vitro)
LIMA-2016**

1.5 Autores de la investigación:

- REYES BERNUY, Mylushka Maytte
- REYES BERNUY, Karelia Katherine

II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN:

INDICADORES	CRITERIOS	EXPERTO 1	EXPERTO 2	EXPERTO 3
1. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.	100%	100%	100%
2. OBJETIVIDAD	Está expresado en elementos observables.	100%	100%	100%
3. ACTUALIDAD	Adecuado al avance de la ciencia y la tecnología.	100%	100%	90%
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.	100%	100%	100%
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos en cantidad y calidad	100%	100%	100%
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos de la investigación.	100%	100%	100%
7. CONSISTENCIA	Basado en aspectos teórico-científicos.	100%	100%	100%
8. COHERENCIA	Entre las dimensiones, indicadores e índices.	100%	100%	100%
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde al propósito de la investigación.	100%	100%	100%
10. OPORTUNIDAD	El instrumento será aplicado en el momento oportuno o más adecuado según sus procedimientos.	100%	100%	100%
PROMEDIO DE VALIDACIÓN		100%	100%	100%

Adaptado de: OLANO, Atilio. (2003).

Deficiente	Regular	Buena	Muy Buena	Excelente
00-20%	21-40%	41-60%	61-80%	81-100%

EXPERTO 1: ELFER VALDIVIA PAZ-SOLDAN

➤ PROMEDIO DE VALORACIÓN: 100.....%.

➤ OPINIÓN DE APLICABILIDAD:

El instrumento puede ser aplicado, tal como está elaborado.

El instrumento debe ser mejorado antes de ser aplicado.

EXPERTO 2: JUAN JULIÁN MARTINEZ

➤ PROMEDIO DE VALORACIÓN: 100.....%.

➤ OPINIÓN DE APLICABILIDAD:

El instrumento puede ser aplicado, tal como está elaborado.

El instrumento debe ser mejorado antes de ser aplicado.

EXPERTO 3: MIGUEL NINO CHAVEZ LEANDRO

➤ PROMEDIO DE VALORACIÓN: 100.....%.

➤ OPINIÓN DE APLICABILIDAD:

El instrumento puede ser aplicado, tal como está elaborado.

El instrumento debe ser mejorado antes de ser aplicado.

VALIDEZ DE INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN

HOSPITAL MILITAR CENTRAL CORONEL LUIS ARIAS SCHREIBER

Clinica de Odontología – Servicio de Endodoncia



FORMULARIO DE FASE EXPERIMENTAL Y MEDICIÓN

OBJETIVOS:

- Registrar el grado de sensibilidad, a través de la medición del halo de inhibición, una vez que los cultivos han sido expuestos a cada una de las sustancias.

PLACA N° 1						
TIEMPO DE INHIBICION SOBRE EL DISCO	24 Hrs.		48 Hrs.		72 Hrs.	
EFECTO	Hay efecto sobre la placa	No hay efecto sobre la placa	Hay efecto sobre la placa	No hay efecto sobre la placa	Hay efecto sobre la placa	No hay efecto sobre la placa
TIPO DE SOLUCIÓN						
Propóleo						
Clorhexidina						
Hidróxido de calcio						
Cloruro de sodio						

PARAMETRO DE EVALUACIÓN:

PROPÓLEOCLORHEXIDINA

NIVEL DE SENSIBILIDAD	
RESISTENTE	≤ 12
INTERMEDIO	13 - 16
SENSIBLE	≥ 17

NIVEL DE SENSIBILIDAD	
RESISTENTE	≤ 12
INTERMEDIO	13 - 16
SENSIBLE	≥ 17

HIDRÓXIDO DE CALCIO

NIVEL DE SENSIBILIDAD	
RESISTENTE	≤ 12
INTERMEDIO	13 - 16
SENSIBLE	≥ 17

CLORURO DE SODIO

NIVEL DE SENSIBILIDAD	
RESISTENTE	≤ 12
INTERMEDIO	13 - 16
SENSIBLE	≥ 17

VALIDEZ DE INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN
HOSPITAL MILITAR CENTRAL CORONEL LUIS ARIAS SCHREIBER

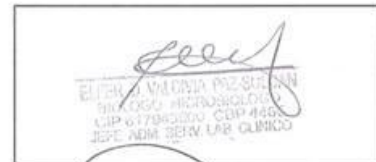
Clínica de Odontología – Servicio de Endodoncia



FORMULARIO DE FASE EXPERIMENTAL Y MEDICIÓN

SOLUCIONES	HALOS DE INHIBICION EN mm		
	PLACA 1		
	24 Horas	48 horas	72 horas
PROPOLEO AL 70 %			
HIDROXIDO DE CALCIO			
CLORHEXIDINA AL 2%			
SUERO FISIOLÓGICO			

Apellidos y nombres	VALDIVIA PAZ SOLDAN, ELFER
Grado Académico	MICROBIOLOGO
Mención	HOSPITAL MILITAR CENTRAL



Apellidos y nombres	JULIAN MARTINEZ UGAS JOAN
Grado Académico	ENDODONCIA
Mención	Hospital Militar Central



Apellidos y nombres	CHAVEZ LEANDRO, Miguel Nino
Grado Académico	MAESTRO EN ODONTOLOGIA
Mención	



ANEXO 4

(Ficha de recolección de
datos)

HOSPITAL MILITAR CENTRAL CORONEL LUIS ARIAS SCHREIBER

Clínica de Odontología



FORMULARIO DE FASE EXPERIMENTAL Y MEDICIÓN

OBJETIVOS:

- Registrar el grado de sensibilidad, a través de la medición del halo de inhibición, una vez que los cultivos han sido expuestos a cada una de las sustancias.

PLACA N°						
TIEMPO DE INHIBICION SOBRE EL DISCO	24 Hrs.		48 Hrs.		72 Hrs.	
TIPO DE SOLUCIÓN \ EFECTO	Hay efecto sobre la placa	No hay efecto sobre la placa	Hay efecto sobre la placa	No hay efecto sobre la placa	Hay efecto sobre la placa	No hay efecto sobre la placa
Propóleo al 70%						
Clorhexidina al 2%						
Hidróxido de calcio						
Suero Fisiológico						

PARAMETRO DE EVALUACIÓN:

PROPÓLEO

NIVEL DE SENSIBILIDAD	
RESISTENTE	≤ 12
INTERMEDIO	13 - 16
SENSIBLE	≥ 17

CLORHEXIDINA

NIVEL DE SENSIBILIDAD	
RESISTENTE	≤ 12
INTERMEDIO	13 - 16
SENSIBLE	≥ 17

HIDRÓXIDO DE CALCIO

NIVEL DE SENSIBILIDAD	
RESISTENTE	≤ 12
INTERMEDIO	13 - 16
SENSIBLE	≥ 17

SUERO FISIOLÓGICO

NIVEL DE SENSIBILIDAD	
RESISTENTE	≤ 12
INTERMEDIO	13 - 16
SENSIBLE	≥ 17

HOSPITAL MILITAR CENTRAL CORONEL LUIS ARIAS SCHREIBER

Clínica de Odontología



FORMULARIO DE FASE EXPERIMENTAL Y MEDICIÓN

SOLUCIONES	HALOS DE INHIBICION EN mm		
	PLACA N°		
	24 Horas	48 horas	72 horas
PROPÓLEO AL 70 %			
CLORHEXIDINA AL 2%			
HIDRÓXIDO DE CALCIO			
SUERO FISIOLÓGICO			