



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE ODONTOLOGÍA

TEMA:

**“SUSCEPTIBILIDAD DEL *Enterococcus faecalis* ATCC- 29212
FRENTE A LA COMBINACIÓN DE MEDICAMENTOS
ANTIMICROBIANOS CON HIDRÓXIDO DE CALCIO, 2018”**

Proyecto de investigación para optar el título de Odontóloga

Autora: Doménica Mishelly Rodríguez Robalino

Tutora: MsC. Silvia Alexandra Reinoso Ortiz.

RIOBAMBA-ECUADOR

2019

PÁGINA DE REVISIÓN DEL TRIBUNAL

Los miembros del tribunal de sustentación del proyecto de investigación de título: “Susceptibilidad del *Enterococcus faecalis* ATCC- 29212 frente a la combinación de medicamentos antimicrobianos con Hidróxido de Calcio, 2018”, presentado por Doménica Mishelly Rodríguez Robalino y dirigida por la MsC. Silvia Alexandra Reinoso Ortiz.

Una vez escuchada la defensa oral y revisado el informe final del proyecto de investigación con fines de graduación, escrito en el cual se ha constatado el cumplimiento de las observaciones realizadas, remite la presente para uso y custodia en la biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Salud de la UNACH; para constancia de lo expuesto firman:

A.....27..... del mes de.....Junio.....del año.....2019.....

Dr. Carlos Espinoza Chávez

Presidente del Tribunal



Firma

Dr. Fernando Mancero

Miembro del Tribunal



Firma

Dra. Silvia Vallejo

Miembro del Tribunal



Firma

CERTIFICADO DEL TUTOR

La suscrita docente tutora de la Carrera de Odontología, de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Universidad Nacional de Chimborazo, MsC.: Silvia Alexandra Reinoso Ortiz CERTIFICO, que la señorita Doménica Mishelly Rodríguez Robalino con C.I: 0604090043, se encuentra apta para la presentación del proyecto de investigación: “**Susceptibilidad del *Enterococcus faecalis* ATCC- 29212 frente a la combinación de medicamentos antimicrobianos con Hidróxido de Calcio, 2018**”

Y, para que conste a los efectos oportunos, expido el presente certificado, a petición de la persona interesada, en la ciudad de Riobamba.

Atentamente.



MSc. Silvia Alexandra Reinoso Ortiz

C.I. 0604631952

DOCENTE- TUTORA DE LA CARRERA DE ODONTOLOGÍA

AUTORÍA

La responsabilidad del contenido de este proyecto de graduación, le corresponde exclusivamente a: Doménica Mishelly Rodríguez Robalino (autor) y MsC. Silvia Alexandra Reinoso Ortiz (tutora); y el patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Nacional de Chimborazo para que se realice la digitalización pública de este trabajo de investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior


Doménica Mishelly Rodríguez Robalino

C.I. 0604090043

Autora

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradezco a mi Dios por siempre bendecirme poniendo personas muy buenas en mi camino y por permitirme culminar esta etapa satisfactoriamente. A la Universidad Nacional de Chimborazo quién abrió sus puertas del saber y del conocimiento, me impartió bases sólidas que me ayudaron a cumplir uno de mis mayores sueños, además de donarme la fuente principal de mi investigación con la mejor pre disponibilidad posible. A sus autoridades que permitieron y facilitaron todo trámite necesario, contribuyendo con mi investigación demostrando su profesionalismo digno de seres llenos de valores.

A la MsC. Silvia Reinoso tutora de tesis por ser una persona llena de virtudes que con su calidad humana siempre supo guiarme con una sonrisa y amabilidad en todo mi trayecto, tendiéndome su mano y llenándome de conocimiento, formándome como profesional por lo cual siempre estaré muy agradecida.

Doménica Mishelly Rodríguez Robalino

DEDICATORIA

A mi Dios por no dejarme caer en cada momento malo que ha surgido, por mantenerme firme en momentos de desmayo y por siempre llenarme de valor para poder enfrentar cualquier adversidad que se presente. A mi madre que siempre me ha apoyado en todo lo que ha podido a lo largo de la carrera, por hacer múltiples sacrificios para que yo tenga siempre lo mejor, por acompañarme y defenderme, a mi padre que siempre ha sido mi motor y mi fuente de inspiración por el cual me decidí a estudiar esta noble carrera, a mi hermana por siempre estar presente en todo momento importante, a mi enamorado que me ha ayudado a lo largo de mi carrera. En general a mi familia y amigos por siempre estar dispuestos a ser mis pacientes colaborando en todo lo que he necesitado, y por ultimo a mis gatos que siempre me alegran la vida.

Doménica Mishelly Rodríguez Robalino

ÍNDICE DE CONTENIDOS

PÁGINA DE REVISIÓN DEL TRIBUNAL	ii
CERTIFICADO DEL TUTOR.....	iii
AUTORÍA	iv
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	vii
RESUMEN	xiii
ABSTRACT	xiv
1. INTRODUCCIÓN	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
3. JUSTIFICACIÓN.....	5
4. OBJETIVOS.....	6
4.1 Objetivo general.....	6
4.2 Objetivos específicos	6
5. MARCO TEÓRICO	7
5.1 <i>Enterococcus faecalis</i>	7
5.1.1 Localización	7
5.1.2 Patologías que ocasiona el <i>Enterococcus faecalis</i>	7
5.1.3 Transmisión.....	8
5.1.4 Mecanismo de resistencia de <i>Enterococcus faecalis</i> a los antibacterianos.....	8
5.1.5 Presencia de <i>Enterococcus faecalis</i> en endodoncias fallidas	9
5.1.6 Tipos de cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> por su ATCC.....	9
5.2 Susceptibilidad bacteriana	10
5.3 Medicamentos antimicrobianos	10
5.3.1 Medicamento intraconducto en Endodoncia	10
5.3.2 Hidróxido de Calcio	11
5.4 Vehículos hidroalcohólicos.....	13

5.4.1	Propilenglicol	13
5.4.2	Paramonoclorofenol	14
5.4.3	Suero fisiológico	15
5.5.	Antibióticos efectivos contra <i>Enterococcus faecalis</i>	16
5.5.1	Ampicilina.....	16
5.5.2	Gentamicina	17
6.	METODOLOGÍA.....	18
6.1	Tipo de Investigación.....	18
6.2	Diseño de Investigación.....	18
6.3	Población	22
6.4	Criterio de Selección.....	23
6.5	Entorno.....	23
6.6	Recursos.....	24
6.7	Técnicas e instrumentos.....	25
6.7.1	Técnicas.....	25
6.7.2	Instrumentos	25
6.8	Análisis estadístico	25
6.9	Operacionalización de las variables.....	25
6.9.1	Variable independiente:.....	26
6.9.2	Variable dependiente:.....	27
7.	RESULTADOS	28
8.	DISCUSIÓN.....	39
9.	CONCLUSIONES.....	41
10.	RECOMENDACIONES	42
11.	REFERENCIAS	43
12.	ANEXOS.....	49
	ANEXO A Escala de Sensibilidad según Duraffourd.....	49
	ANEXO B Sensibilidad de los tratamientos al tercer día de revisión.....	49

ANEXO C Agar cerebro corazón en cajas Petri.....	50
ANEXO D Mezclas de medicamentos en cámara de flujo	50
ANEXO E Mezclas del tratamiento 1, 2, 3, 4	51
ANEXO F Medición del tratamiento 3.....	51
ANEXO G Exposición del tratamiento 1	52
ANEXO H Exposición del tratamiento 2	52
ANEXO I Exposición del tratamiento 3.....	53
ANEXO J Exposición del tratamiento 4.....	53
ANEXO I Exposición del Control Positivo.....	54

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla Nro. 1: Bienes	24
Tabla Nro. 2: Servicios	24
Tabla Nro. 3: Humanos	25
Tabla Nro. 4: Medicamentos antimicrobianos con Hidróxido de Calcio	26
Tabla Nro. 5: Susceptibilidad de <i>Enterococcus faecalis</i>	27
Tabla Nro. 6: Sensibilidad de las combinaciones de los medicamentos.....	28
Tabla Nro. 7: Análisis de varianza de los tratamientos con Hidróxido de Calcio (mediciones iniciales)	29
Tabla Nro. 8: Comparación de medias de tratamientos con Hidróxido de Calcio (mediciones iniciales).....	30
Tabla Nro. 9: Comparación de medias entre tratamientos con Hidróxido de Calcio de la revisión inicial (subconjuntos homogéneos)	32
Tabla Nro. 10: Análisis de varianza de los tratamientos con Hidróxido de Calcio vs Control Positivo	33
Tabla Nro. 11: Comparación de medias de tratamientos con Hidróxido de Calcio de revisión final (subconjuntos homogéneos).....	34
Tabla Nro. 12: Diagnóstico de medias de los tratamientos con Hidróxido de Calcio vs el Control Positivo.....	35
Tabla Nro. 13: Sensibilidad según Duraffourd	49
Tabla Nro. 14: Sensibilidad de los tratamientos al tercer día de revisión.....	49

ÍNDICE FOTOGRÁFICO

Fotografía Nro. 1: Cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC- 29212.....	18
Fotografía Nro. 2: Replicación y activación del <i>E. faecalis</i> ATCC-29212.....	18
Fotografía Nro. 3: Crecimiento de la cepa	19
Fotografía Nro. 4: Cultivo puro de <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC- 29212.....	20
Fotografía Nro. 5: Inoculación de la bacteria en el agar cerebro corazón.....	20
Fotografía Nro. 6: Mezcla de Hidróxido de Calcio + propilenglicol	21
Fotografía Nro. 7: Mezcla de Hidróxido de Calcio + paramonoclorofenol	21
Fotografía Nro. 8: Mezcla de Hidróxido de Calcio + ampicilina + gentamicina + propilenglicol.....	21
Fotografía Nro. 9: Mezcla de Hidróxido de Calcio + Suero fisiológico	22
Fotografía Nro. 10: Agar cerebro corazón en cajas Petri	49
Fotografía Nro. 11: Mezclas de medicamentos en cámara de flujo	50
Fotografía Nro. 12: Mezclas del tratamiento 1, 2, 3, 4.....	51
Fotografía Nro. 13: Medición del tratamiento 3 (Hidróxido de Calcio + ampicilina + gentamicina + propilenglicol).....	51
Fotografía Nro. 14: Tratamiento 1 (Hidróxido de Calcio + propilenglicol).....	52
Fotografía Nro. 15: Tratamiento 2 (Hidróxido de Calcio + paramonoclorofenol).....	52
Fotografía Nro. 16: Tratamiento 3 (Hidróxido de Calcio + ampicilina + gentamincina + propilenglicol)	53
Fotografía Nro. 17: Tratamiento 4 (Hidróxido de Calcio + suero fisiológico)	53
Fotografía Nro. 18: Control Positivo.....	54

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico Nro. 1: Comparación de medias de tratamientos con Hidróxido de Calcio (medición inicial).....	32
Gráfico Nro. 2: Diagnóstico de medias de los tratamientos con Hidróxido de Calcio vs Control Positivo.....	38

RESUMEN

Durante la última década el microorganismo *Enterococcus faecalis* ATCC- 29212 ha cobrado gran importancia a nivel mundial por su elevada incidencia en diferentes enfermedades tras adquirir resistencia a muchos antimicrobianos e incluso proliferarse tras la desaparición de medicamentos tradicionales como el Hidróxido de Calcio usado en tratamientos de endodoncia, por lo que el objetivo del presente estudio fue evaluar la susceptibilidad del *Enterococcus faecalis* ATCC-29212 frente a la combinación de medicamentos antimicrobianos con Hidróxido de Calcio. Se inoculó el microorganismo en 15 cajas Petri con agar cerebro corazón, y se distribuyó dos discos de papel filtro en T1: Hidróxido de Calcio + propilenglicol, T2: Hidróxido de Calcio + paramonoclorofenol, T3: Hidróxido de Calcio + ampicilina gentamicina + propilenglicol, T4: Hidróxido de Calcio + suero fisiológico, Control negativo: agua destilada y Control positivo: pasta comercial a base de Hidróxido de Calcio por triplicado, se midió los halos de inhibición y se comparó con la escala de Duraffourd, obteniendo una mayor sensibilidad con el tratamiento 3 de $22,50 \pm 3,3$. La técnica que se utilizó fue la observación, medición y el instrumento la bitácora, los resultados fueron procesados con ANOVA de un factor donde se concluyó que el tratamiento más efectivo para inhibir la bacteria fue Hidróxido de Calcio con ampicilina gentamicina y propilenglicol en comparación con los otros tratamientos.

PALABRAS CLAVE: *Enterococcus faecalis*, Hidróxido de Calcio, Susceptibilidad, propilenglicol, paramonoclorofenol, ampicilina, gentamicina, suero fisiológico.

ABSTRACT

During the last decade, the microorganism *Enterococcus faecalis* ATCC-29212 has taken significant importance worldwide for its high incidence in different diseases after acquiring resistance to many antimicrobials and even increase after the disappearance of traditional drugs such as *Calcium Hydroxide* used in endodontic treatments. So this study aimed to assess the susceptibility of *Enterococcus faecalis* ATCC-29212 against the combination of antimicrobial drugs with *Calcium Hydroxide*. The microorganism was inoculated in 15 Petri boxes with brain heart agar, and two filter paper discs were distributed in T1: *Calcium Hydroxide* + *propylene glycol*, T2: *Calcium Hydroxide* + *paramonochlorophenol*, T3: *Calcium Hydroxide* + *ampicillin gentamicin* + *propylene glycol*, T4: *Calcium Hydroxide* + *physiological serum*. Negative Control: distilled water and Positive Control: commercial paste based on *Calcium Hydroxide* in triplicate, inhibition halos were measured and compared with the *Duraffourd* scale, obtaining higher sensitivity with treatment 3 of 22.50 ± 3.3 . The technique used was observation, measurement and logbook instrument, the results were processed with ANOVA of a factor where it was concluded that the most effective treatment to inhibit the bacterium was *Calcium Hydroxide* with *ampicillin gentamicin* and *propylene glycol* compared with the other treatments.

Keywords: Enterococcus faecalis, Calcium Hydroxide, Susceptibility, propylene glycol, paramonochlorophenol, ampicillin, gentamicin, physiological serum.

Translation reviewed by: Trujillo, Myriam
Linguistic Competences Professor



1. INTRODUCCIÓN

En la presente investigación se aborda el tema de *Enterococcus faecalis*, bacteria Gram positiva, anaerobia facultativa caracterizada por localizarse en el tracto gastrointestinal como también en el tracto urogenital femenino, además de formar parte de la flora normal de la cavidad bucal. El medicamento antibacteriano que comúnmente se utiliza en el tratamiento endodóntico es el Hidróxido de Calcio debido a las propiedades que contiene, pero esta bacteria ha demostrado ser capaz de sobrevivir al mismo. Al mezclarlo con diversos vehículos hidroalcohólicos como paramonoclorofenol, propilenglicol o con antibióticos como la ampicilina y gentamicina puede potenciar su acción. ⁽¹⁻⁴⁾

La característica principal de este tipo de bacteria es que suele presentarse en el fracaso de tratamientos de conducto por motivo que en su estructura posee una enzima llamada convertidora de angiotensina y serina proteasa que le da la capacidad de adherirse a los tejidos dentales. Para analizar esta problemática es importante indicar sus causas. Una de ellas es que al ser propia del tracto gastrointestinal llega a la cavidad bucal por medio de una deficiente higiene al manipular alimentos después de ir al baño, haciendo que esta bacteria ingrese a las distintas estructuras del diente principalmente a los túbulos dentinarios permitiéndole sobrevivir a diversas condiciones como a sustancias antimicrobianas, a diversos pH, subsistir sin nutrientes, alojarse en lugares inaccesibles como los túbulos dentinarios, fijarse a distintos materiales de obturación como los conos de gutapercha, cementos de obturación de conducto. ⁽¹⁾

El tipo de investigación que se ejecuta es experimental y descriptiva con un diseño muestral no probabilístico de cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC- 29212, en las que se aplica un análisis in vitro de susceptibilidad, la técnica utilizada es la observación y medición y el instrumento de recolección de datos es la bitácora por tanto el objetivo de la presente investigación es determinar la susceptibilidad máxima de la cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC- 29212 en uno de los cuatro medicamentos antimicrobianos con Hidróxido de Calcio mezclado con diferentes vehículos como propilenglicol, paramonoclorofenol, suero fisiológico y dos antibióticos ampicilina y gentamicina con la adición de un vehículo de propilenglicol.

Es de interés transcendental analizar los resultados de la mezcla de medicamentos clásicos con su respectivo vehículo o antibiótico y comprobar la eficacia en la eliminación del

Enterococcus faecalis, por lo que los resultados pueden ser utilizados por especialistas y estudiantes, quienes buscan éxito en el tratamiento de eliminación de la bacteria a su vez permiten elevar la calidad de salud de los pacientes portadores del microorganismo al preservar por mayor tiempo sus piezas dentales.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Al realizar el tratamiento de conducto conocido como endodoncia el objetivo fundamental es preservar la pieza dental haciendo que su sistema de conductos permanezca aséptico y desinfectado por un largo tiempo, sin embargo, la presencia de algunas bacterias que tienen amplio potencial de patogenicidad como es el caso de *Enterococcus faecalis* suele producir el fracaso de dichos tratamientos. Esta es una bacteria Gram positiva, anaerobia facultativa, propia del tracto gastrointestinal que al evacuar los desechos biológicos pone a esta bacteria en contacto tanto con el tracto genital femenino como con la cavidad oral ya sea por una mala higiene o manipulación incorrecta de alimentos lo que ha hecho que forme parte de la flora normal y en ocasiones patológica de la cavidad bucal. ^(1,2,5-13)

Se caracteriza en su mayoría por persistir en el sistema de conductos causando que el tratamiento una vez terminado no funcione por tal al ser muy patógeno logra resistir contra algunas sustancias antimicrobianas una de ellas es el Hidróxido de Calcio, de igual manera sobrevive a condiciones extremas producidas en el sistema de conductos incluyendo sus ramificaciones, debido a que ingresa por el espacio esmalte resina degradándola hacia los túbulos dentinarios, también por el cemento dental fijándose por sus proteínas de colágeno a los conos de gutapercha, cementos de obturación endodóntico, haciendo de estos un medio donde vivir y multiplicarse. ^(1,14)

Según expresa en su trabajo Molander et al citado por García et al ^{(5) (p 157)}:

El *Enterococcus faecalis* es el microorganismo que con mayor prevalencia ha sido encontrado en las piezas dentales que han sufrido fracaso en el tratamiento endodóntico de un (80 a 90%), lo que insinúa que es un microorganismo sumamente pernicioso cuya permanencia en el conducto radicular representa un problema terapéutico importante.

De acuerdo con Pinheiro et al citado por García et al ^{(6) (p 157)}:

La infección primaria se encuentra relacionado frecuentemente con lesiones periapicales que son crónicas asintomáticas en periodontitis apical aguda, hallándose en el 40% de las infecciones primarias endodónticas y su frecuencia en lesiones periapicales persistentes es más alta localizándose hasta nueve veces más *E. faecalis* en los fracasos endodónticos que en la infección primaria.

Ardila et al ⁽⁷⁾ manifiestan:

Que según otros autores han identificado al *Enterococcus faecalis* en un 60% en personas con un alto índice de caries, y un 70 % en personas que padecen infecciones endodónticas. En su investigación tuvieron como resultado que, de 18 personas con Periodontitis Apical Asintomática, solo nueve pacientes mostraron *Enterococcus faecalis* siendo estos los que tenían mayor índice dental de cariados, obturados, perdidos (COP) en un promedio de 18.22 ± 4.41 , mientras que para los *Enterococcus faecalis* negativos fue 18.11 ± 2.80 ($p = 0.754$). Teniendo como conclusión que el *Enterococcus faecalis* suele estar presente también en infecciones periodontales por lo que es necesario que se tome medidas de asepsia rigurosas durante el tratamiento endodóntico.

Pardi et al ^{(9) (p 1)} manifiestan que este microorganismo no solo está presente en los fallos endodónticos, según estudios han demostrado que en el 70% de los casos se han encontrado en raíces que han sido obturadas con periodontitis apical, en un 60% en tratamientos endodónticos fallidos y en un 25% en piezas dentales que no han sido sometidas al tratamiento.

Fonseca ^{(8) (p 34-35)} el *E. faecalis* no solo se puede localizar en el individuo también puede presentarse en superficies de radiografías intraorales explicando que el *Enterococcus faecalis*, aparece en el botón de exposición es del 12,22%, en el brazo de extensión el 11,11%, en el cabezal la presencia se ubica en el 13,3%, en cuanto al tablero de control y el tubo colimador el porcentaje de presencia es del 20%. Por esta razón *Enterococcus faecalis* supone un problema que puede ocasionar infecciones cruzadas a los usuarios de dichos aparatos.

Por los antecedentes antes citados la pregunta de investigación es: ¿Existe algún medicamento compuesto por Hidróxido de Calcio, combinado con vehículos hidroalcohólicos y antibióticos que permita inhibir la vida y proliferación del *Enterococcus faecalis* ATCC- 29212?.

3. JUSTIFICACIÓN

Las especies del género *Enterococcus* constituyen un serio peligro para la salud, pues se han convertido en un patógeno nosocomial de primer orden y de importancia creciente. Pueden provocar enfermedades muy graves como la bacteriemia y la endocarditis. También son causantes de infecciones de heridas quirúrgicas, septicemia, infecciones de piel, tejidos blandos, entre otros. La mayoría de las infecciones son originadas de la microbiota endógena, aunque pueden ser transmitidas de persona a persona o por consumo de agua o alimentos contaminados; además constituyen una causa muy frecuente de infección del tracto urinario (ITU), especialmente en pacientes hospitalizados. Hasta el momento se han descrito 17 especies de *Enterococcus*, las más frecuentes son *E. faecalis* y *E. faecium* aisladas en humanos, siendo *Enterococcus faecalis* el responsable de alrededor del 90% de las infecciones causadas por *Enterococcus* por tanto la importancia del presente estudio radica en la elección de un medicamento que contenga Hidróxido de Calcio con la presencia de vehículos hidroalcohólicos y antibióticos de espectro máximo que permita la erradicación completa del microorganismo ya que los procedimientos odontológicos hasta el momento usados como el Hidróxido de Calcio en tratamientos de endodoncia han mantenido una serie de fracasos y es que el *Enterococcus faecalis* es capaz de sobrevivir a condiciones extremas e incluso lograr su proliferación después que este medicamento ha desaparecido.⁽⁹⁾

La ampicilina y gentamicina combinado posee propiedades antibióticas de amplio espectro, de ahí su uso en el tratamiento de esta bacteria ⁽¹⁰⁾. Debido a que causa susceptibilidad de manera in vivo, se busca realizar pruebas in vitro con la agregación de Hidróxido de Calcio y propilenglicol para comprobar si produce los mismos resultados o tienen un efecto mayor por la adicción de estos componentes.

Otra de las características que marca la relevancia del estudio es la viabilidad de ejecución ya que el desarrollo del experimento está programado dentro de 6 meses permitidos para la investigación, los beneficiarios directos son los pacientes portadores del microorganismo, pues cada uno de ellos tiene la oportunidad de preservar por mayor tiempo sus piezas dentales y el índice de tratamientos endodónticos fallidos disminuirá, en tanto que los beneficiarios indirectos son los profesionales de la salud porque se agregará este medicamento a sus protocolos tradicionales, y el desencadenante será el éxito en sus tratamientos.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar la susceptibilidad del *Enterococcus faecalis* ATCC- 29212 frente a la combinación de medicamentos antimicrobianos con Hidróxido de Calcio, 2018

4.2 Objetivos específicos

- Determinar la susceptibilidad de *Enterococcus faecalis* ATCC- 29212 al aplicar Hidróxido de Calcio con propilenglicol.
- Determinar la susceptibilidad de *Enterococcus faecalis* ATCC- 29212 al aplicar Hidróxido de Calcio con paramonoclorofenol.
- Determinar la susceptibilidad de *Enterococcus faecalis* ATCC- 29212 al aplicar Hidróxido de Calcio más Ampicilina, Gentamicina y propilenglicol.
- Determinar la susceptibilidad de *Enterococcus faecalis* ATCC- 29212 al aplicar Hidróxido de Calcio con suero fisiológico.

5. MARCO TEÓRICO

5.1 *Enterococcus faecalis*

El *Enterococcus faecalis* es una bacteria caracterizada por ser esférica como también ovoide, su tamaño oscila entre 0,6-2,0 o 0,6-2,5 μm , son cocos Gram positivos, que pueden presentarse en forma de pares o en cadenas cortas, anaerobios facultativos permitiéndole sobrevivir en espacios donde exista o no aire, siendo este no tóxico para la bacteria, además de provocar un pH de 4,2 a 4,6. Su crecimiento lo realizan a partir de temperaturas desde 10° C a 45°C, siendo más óptimo cuando hay una temperatura de 37°C. Años atrás a este microorganismo se lo conocía como *Streptococcus faecalis*, pero a medida que ha transcurrido el tiempo se lo ha separado de esta familia perteneciendo a los *Enterococcus* por sus características taxonómicas como también por sus ácidos nucleicos. Existen más de 17 especies, pero las que están presentes en los humanos son: *E. faecalis* y *E. faecium*. (2,12,13,15)

5.1.1 Localización

Esta bacteria suele encontrarse presente principalmente en el intestino pero al ser un órgano que posee motilidad este microorganismo puede avanzar a otras áreas como al tracto vaginal y también a la cavidad bucal encontrándose principalmente en la saliva, aunque se ha podido determinar que también se localizan en otras zonas de la boca como las tonsilas, surco gingival, bolsas periodontales, lengua, y en el más importante en los conductos radiculares ubicándose en áreas como istmos, ramificaciones, deltas, irregularidades de los canales y túbulos dentinarios donde es más difícil el acceso a ellos; creciendo incluso en un pH de 9,6. Cuando se presenta en porcentajes normales no suponen un problema, pero cuando esta bacteria se propaga a otros órganos ingresando por heridas, sangre y orina puede causar infecciones o enfermedades potencialmente peligrosas especialmente si la persona se encuentra con un sistema inmune bajo. A este microorganismo se le puede encontrar tanto en dientes temporales como definitivos siendo los temporales fiel reflejo de cómo serán los definitivos (2,7,12,13,15,16)

5.1.2 Patologías que ocasiona el *Enterococcus faecalis*

Principalmente produce enfermedades de origen infeccioso, a nivel general produce infección urinaria, endocarditis, bacteriemias en las que las bacterias se encuentran en sangre, infecciones intraabdominales, pélvicas. Particularmente en el ámbito odontológico

pertenece a la flora normal de la saliva pero al encontrarse en un mayor porcentaje es causante de infecciones orales siendo la causa principal de fracaso en el tratamiento del conducto por los componentes que tienen en sus estructuras como el colágeno y la fibronectina que ayudan a la adhesión a los tejidos como a la dentina del diente, como también produciendo enfermedades a nivel periapical por el potencial de causar apoptosis y piroptosis a las células. ^(2,12,13,17,18)

5.1.3 Transmisión

Esta bacteria en la mayoría de los casos suele transmitirse por deficiente higiene, ya que al estar presente en la materia fecal y no haber medidas de higiene convencionales por parte de las personas que se encuentran en contacto con deposiciones aumenta el riesgo de su propagación. Los objetos que pueden permitir su contagio son cepillos dentales cerca de los retretes, jabón corporal, toallas, teléfonos, manijas de puertas, equipos de uso odontológico y también al haber contacto con manos. ⁽¹³⁾

5.1.4 Mecanismo de resistencia de *Enterococcus faecalis* a los antibacterianos

Es el microorganismo más resistente a los antibióticos siendo inmune para algunos tratamientos, debido a que puede vivir y tolerar una gran variedad de temperaturas, condiciones, pH. Su resistencia radica en la unión por medio de una biopelícula de capa fina que se adhieren firmemente a cualquier superficie, sumándole a esto que puede sobrevivir largos plazos de tiempo sin nutrición inclusive utilizan la sangre para poder sobrevivir sin comida, son resistentes a la penicilina gracias a una proteína que contienen que inhibe su actividad. El ácido fólico es esencial para que esta bacteria pueda crecer por tal razón los medicamentos que inhiben la producción de ácido fólico ayuda a destruir estas infecciones. El *Enterococcus faecalis* inclusive es resistente al Hidróxido de Calcio posee una mayor resistencia al pH alto activando una respuesta denominada estrés la que le permite soportar cualquier amenaza logra sobrevivir y recuperarse, la dentina posee un efecto buffer donde la alcalinidad del Hidróxido de Calcio que es de 12,4 puede bajar a un 8,5 por el taponamiento de la dentina siendo inalcanzable a los túbulos dentinarios donde suele alojarse *E. faecalis*, mientras el pH sea más alto siempre tendrá mayor efectividad en la disminución de este microorganismo. Las cepas que son muy resistentes suponen una amenaza ya que resistirán a los antimicrobianos que se encuentra disponibles. ^(2,13,15,19)

5.1.5 Presencia de *Enterococcus faecalis* en endodoncias fallidas

La razón primordial para que se produzca el fracaso de un tratamiento de conducto es que los microorganismos no hayan sido erradicados en su totalidad en casos de enfermedades pulpares severas como es la necrosis pulpar que al ser un estado de putrefacción del nervio hay una gran cantidad de microorganismos y al añadir a esto que no exista antibacterianos de amplio potencial de eliminación o deficiente limpieza, los microorganismos causan que el tratamiento no sea válido y fracase. El *Enterococcus faecalis* al ser una bacteria patógena produce desechos lo cual es un factor etiológico de las enfermedades pulpares especialmente de la necrosis pulpar, en los casos de retratamiento las causas pueden ser la incompleta eliminación del tejido que se encuentra contenido en un sistema complejo de conductos quedando presentes microorganismos en algunos casos en la porción apical de la raíz. Cuando en la obturación se cometen fallas es una oportunidad de este microorganismo para colonizar estas zonas y sobrevivir a los materiales, además que estos errores colaboran a suministrar un alimento para este crecimiento de la bacteria Este microorganismo no solo está presente en los fallos endodónticos según estudios han demostrado que en el 70% de los casos se han encontrado en raíces que han sido obturadas periodontitis apical. *Enterococcus faecalis* se ha encontrado presente en tratamientos endodónticos fallidos en un 60% pero también se encuentra en un 25% en piezas dentales que no han sido sometidas al tratamiento, puede ser que después de finalizar el tratamiento la pieza dental tiene una interfaz que surge entre el elemento sellador con la estructura dentaria sufre una degradación permitiendo la proliferación de microorganismos entre ellos *E. faecalis*. Según estudios afirman que tiene la capacidad degradativa similar a la esterasa que le permite degradar a los componentes de la resina ocasionando la contaminación de la pieza dental. ^(2,9,14)

5.1.6 Tipos de cepas de *Enterococcus faecalis* por su ATCC

El término ATCC significa colección de cultura americana hace referencia a la bacteria que se encuentra viva para procedimientos con fines de estudio in vitro es decir en laboratorio, donde se necesita los medios adecuados para que la bacteria pueda seguir creciendo y reproduciéndose. El medio que se le debe otorgar a este tipo de bacteria es aerobio a una temperatura de 37°C. La ATCC ha enumerado alrededor de 69 cepas de *Enterococcus faecalis* numerándolas de acuerdo a sus características genotípicas y fenotípicas, siendo las más reconocidas dos la ATCC 29212 que es aislada del tracto urinario y la ATCC 4083 aislada del conducto radicular. La cepa aislada del tracto urinario ha demostrado ser la más resistente a los antibacterianos por la razón que está constantemente ha estado rodeada de

pH sumamente altos o bajos por lo que las propiedades de algunos antibacterianos tienen las mismas características por lo que su eliminación es más compleja en comparación con la cepa aislada del conducto radicular. ^(20,21)

5.2 Susceptibilidad bacteriana

La susceptibilidad es el cambio o modificación del microorganismo donde al estar expuestos ante algún tipo de antimicrobiano se ve afectado causándole posiblemente el debilitamiento, inhibición o posiblemente la muerte. De algún modo este término se relaciona ampliamente con la resistencia bacteriana ya que la mayoría de microorganismos al ser entes perspicaces logran conocer al organismo obteniendo la capacidad de reaccionar contra las barreras de protección causando el aumento de la infección y propagación a otras áreas como a personas siendo un motivo de preocupación. Es trascendental considerar que al tomar ciertos antimicrobianos o medicamentos con el paso del tiempo surgen variaciones genéticas tanto para el huésped como para el microorganismo haciendo que este vaya adaptándose a vivir en esta condición que posteriormente no cause ninguna susceptibilidad en el mismo volviéndose cada vez más resistente y dejando vulnerable al hospedero. ⁽¹¹⁾

5.3 Medicamentos antimicrobianos

5.3.1 Medicamento intraconducto en Endodoncia

El medicamento intraconducto es aquel que se lo coloca en el interior del sistema de conductos principalmente en casos de necrosis pulpar como también de retratamientos para asegurar la eliminación o desinfección de microorganismos entre las distintas sesiones por la razón que entre cita y cita puede haber contaminación además que las soluciones irrigadoras según un estudio describe que se eliminan el 90% de microorganismo y ese 10% debe ser eliminado con la aplicación de medicamento. Para la colocación del medicamento se debe tener en cuenta primeramente la cantidad que se va a colocar ya que en una pieza dental anterior que tiene conductos amplios no se va a poner la misma cantidad que en los molares que tienen conductos estrechos, la localización es también importante de acuerdo al medicamento que se utilice ya que algunos suelen ser muy fuertes para el tejido periapical y se deberán colocar lo más alejado de este y por último el tiempo de aplicación juega un papel fundamental debido que hay que conocer el tiempo que actúa el medicamento para obtener el efecto deseado, tomando en cuenta también las modificaciones del medicamento al estar en contacto con sangre, pus, etc. ⁽²²⁾

El motivo por el cual es importante la medicación intraconducto es por cuatro causas, la primera para eliminar todo el tipo de bacterias que quedo después de haber preparado ya el conducto radicular, segundo para disminuir la inflamación que se produjo en los tejidos periapicales como en el caso de un absceso o quiste, tercero para impedir que se dé la filtración de saliva o microorganismos causada por la obturación temporal y cuarto para disminuir el dolor ya que la medicación va a causar una acción sobre los nervios tanto pulpares como sensoriales. ⁽²²⁾

5.3.1.1 Criterios para la selección del medicamento intraconducto

Para la selección del medicamento antibacteriano que se va a colocar en el conducto radicular es necesario tomar en cuenta tres consideraciones, la primera es conocer la cantidad y la concentración que se necesita de medicamento para que logre inhibir a los microorganismos y a la vez no cause lesiones a nivel de los tejidos periapicales, segundo es la manera de colocación del medicamento ya que en casos como necrosis pulpar el Hidróxido de Calcio actúa por contacto por tal razón debe llenarse todo el conducto con este medicamento; y por último el tiempo en que se va aplicar el medicamento ya que cada uno tiene su tiempo de vida útil lo cual es importante conocer para que no pierda sus propiedades mientras se encuentra en el conducto radicular. ⁽³³⁾

5.3.2 Hidróxido de Calcio

Es un polvo resultado de la mezcla entre el óxido de calcio y agua. Es el material más utilizado y de elección debido a que su pH es de 12.4 lo que le atribuye la característica de ser bactericida, es utilizado en el campo de la odontología como protección pulpar directa como indirecta, para pulpotomía, y como medicamento intraconducto. Este medicamento se lo puede preparar con distintos vehículos como suero fisiológico, paramonoclorofenol, propilenglicol, dejándolo actuar por 7 días. Es considerado como un medicamento de elección. ^(20,23-25,27)

- Una de las propiedades más importantes del Hidróxido de Calcio es eliminar a los microorganismos que logran sobrevivir en los conductos radiculares después de que se haya efectuado la limpieza, es considerado como un antibacteriano por la característica que posee un pH de 12,4 que actúa en la actividad enzimática de la bacteria, ayudando a inhibirla al hidrolizar la fracción lipídica propia de los lipopolisacáridos que constituyen a la pared de la bacteria, ayudando a esterilizar en un 88%.

- Ayuda a disminuir inflamaciones en los tejidos circundantes.
- Contribuye a controlar el edema eliminando el exudado que suele producirse al estar presentes las enfermedades pulpares como periapicales.
- Aporta con una correcta cicatrización y regeneración a nivel apical cuando se han producido diferentes lesiones.
- Sella correctamente el conducto, impidiendo que se formen nichos o espacios que serían futuros hogares de microorganismos patógenos.
- Controla y reduce la hemorragia.
- Contribuye a la disolución del tejido pulpar con el apoyo de la irrigación con hipoclorito de sodio.
- Previene la reabsorción radicular por causa inflamatoria.
- Ayuda a controlar el dolor postoperatorio que puede surgir por sobre instrumentación, por incompleto desbridamiento de los conductos entre otros. (23,28, 39)

5.3.2.1 Indicaciones

- Se recomienda en conductos radiculares que posean una anatomía complicada en la que existan zonas de difícil acceso tanto a la instrumentación como irrigación.
- En patologías de los tejidos periapicales tales como periodontitis en una 90% contribuye a su curación.
- En reabsorciones del ápice para que contribuya a su regeneración.
- En casos donde la endodoncia se prolongue a varias sesiones.
- En caso de piezas dentales con necrosis pulpar donde no se tiene la certeza de la eliminación completa de los microorganismos.
- En piezas donde el sangrado no ceda al momento de extirpar la pulpa.
- En piezas dentales jóvenes en las que no se ha completado la etapa de apicoformación.

5.3.2.2 Mecanismo de acción

El Hidróxido de Calcio libera iones hidroxilos que actúan en la membrana citoplasmática de la bacteria actuando en su actividad enzimática, provocando daños en sus componentes orgánicos, en el transporte de los nutrientes, destruye los ácidos grasos insaturados de la membrana plasmática produciendo una reacción de saponificación. Al tener un pH alcalino facilita la inactivación reversible como irreversible dependiendo del tiempo que se encuentre expuesto el microorganismo. Este antibacteriano solo ejerce su acción bactericida cuando se

encuentra en contacto directo con las bacterias, y lo hace bloqueando el espacio de los conductos dentinarios disminuyendo los nutrientes de los microorganismos que se encuentran albergados en la dentina, al mismo tiempo absorbe el dióxido de carbono que se encuentra en el espacio. ^(23,29)

5.3.3.3 Resistencia de *Enterococcus faecalis* al Hidróxido de Calcio

Cuando esta bacteria se encuentra en su fase de latencia se vuelve mucho más resistente al Hidróxido de Calcio, se sospecha que cuando la bacteria experimenta algún tipo de amenaza se activa una respuesta de estrés donde le permite a la bacteria protegerse, tolerar, subsistir y recuperarse, sobreviviendo episodios de falta de nutrientes, protección contra medios adversos, sintetiza proteínas para protegerse de soluciones antimicrobianas. Según estudios han demostrado que esta bacteria no sobrevive a un pH mayor de 11, 5 pero al encontrarse estos profundamente en la dentina no logran ser inhibidos por el hidróxido además que este valor suele bajar a un pH de 8,5 a 9 por el taponamiento que se produce en la dentina. La exposición continua al Hidróxido de Calcio hace que esta bacteria adquiera resistencia incluso a niveles que podrían ser mortales. ⁽²⁾

5.3.3.4 Combinación de Hidróxido de Calcio con diferentes vehículos para eliminación de *Enterococcus faecalis*

Por las excelentes propiedades que tiene el Hidróxido de Calcio se busca un vehículo que ayude a potenciar sus propiedades, según un estudio que comparó tres vehículos la solución fisiológica inhibió al microorganismo al primer día manteniéndose así durante 7 y 14 días, gluconato de clorhexidina actuó en 1 hora y se mantuvo a los 7 y 14 días y propilenglicol actuó a la 1 hora y se volvió a infectar al 1 día 7 y 14 días. ⁽³⁰⁾

5.4 Vehículos hidroalcohólicos

5.4.1 Propilenglicol

Es un líquido que no tiene color ni sabor, suele ser viscoso, con un sabor dulce, siendo un excelente desinfectante ya que contiene propiedades que lo hacen ser bactericida, fungicida, germicida, su función es servir de vehículo ya que tiene el potencial que ayudara a prevenir y curar a infecciones microbianas, tiene la característica que no cambia las propiedades del material que disuelve solo logra cambiar su textura. Al mezclar este antimicrobiano con otro componente como es el ozono logra potenciar sus características y más si se aplica

ultrasonido por 30 segundos ya que permite la eliminación en un mayor porcentaje del *Enterococcus faecalis*.^(24,31,32)

5.4.1.1 Uso con Hidróxido de Calcio

Según estudios han determinado que no es tóxico para las células de los tejidos periapicales inclusive sus propiedades son efectivas para tratamientos de endodoncia ya que ayuda a la liberación prolongada del medicamento y tiene la habilidad de llegar a zonas profundas de los túbulos dentinales, sus propiedades se potencian con la acción antimicrobiana que posee el Hidróxido de Calcio, al combinarlo con propilenglicol que es un vehículo acuoso se ha descubierto que logra liberar mayor cantidad de iones de calcio a los 7 días en comparación con otros vehículos.^(23,24)

5.4.2 Paramonoclorofenol

El paramonoclorofenol es un líquido muy utilizado en el campo de la odontología especialmente en la especialidad de endodoncia como medicamento intraconducto, a este líquido se logra obtener mediante la trituración de cristales de paraclorofenol y alcanfor dando un aceite de un color marrón y un olor característico, la unión del fenol con el cloro le otorgan la acción bactericida. Esta sustancia se identifica por ser citotóxica y la presencia de alcanfor aumenta esa toxicidad, pero por no estar en contacto directo con los tejidos periapicales no es muy frecuente estos efectos.^(33,34)

5.4.2.1 Mecanismo de acción

Este líquido aceitoso al ser bactericida actúa eliminando la pared celular de la bacteria, inhibiendo sus enzimas esenciales y reduciendo la producción de prostaglandinas, contribuyendo también a la disminución de adherencia de los macrófagos para que se facilite la fagocitosis.⁽³⁴⁾

5.4.2.2 Uso con Hidróxido de Calcio

Se ha demostrado que el Hidróxido de Calcio es más efectivo al impedir la recontaminación del conducto ya que la saliva logra diluirlo haciendo que pierda su potencial siendo útil solo 3 días perdiendo el 90% de su efecto en las primeras 24 horas, logra eliminar el 95% de bacterias presentes en el conducto, tiene una buena difusión por los túbulos dentinarios, pero la desventaja para inhibir a las bacterias es que debe existir proximidad íntima a ellas. Al combinar Hidróxido de Calcio con paramonoclorofenol va a incrementar los efectos contra las bacterias logrando su muerte en 1 hora en bacterias aerobias con excepción del

Enterococcus faecalis que se necesita el paso de 1 día por ser también anaerobia. Al mezclar estos dos medicamentos va haber una inhibición del *Enterococcus faecalis* a los 14 días eliminando en un 100%.^(33,35)

5.4.2.3 Efectividad en endodoncia

Según estudios este líquido ha demostrado ser igual de efectivo al compararlo con otros antibacterianos como el propóleo que al ser natural tiene el mismo efecto que el paramonoclorofenol. Al usar el paramonoclorofenol alcanforado va ejercer su acción bactericida los tres primeros días que se encuentra en contacto con los microorganismos principalmente con *Enterococcus faecalis*.⁽³⁴⁾

5.4.3 Suero fisiológico

Es conocido también como solución salina que se encuentra al 0,9 %, es ampliamente utilizada en el campo clínico por ser levemente hipertónica. Esta solución en su contenido posee relación 1/1 entre el Na⁺ (sodio) y Cl⁻ (cloro), pero se conserva a favor del primero, incluye 900 miligramos de ClNa por cada 100 mililitros de agua siendo la misma concentración de sal que posee las células normales del cuerpo humano. Tiene como osmolaridad 308 mOsm/L y su pH es ligeramente ácido. Esta solución permanece de 2 a 3 horas en el líquido extravascular, permitiendo reponer volúmenes de líquidos perdidos sin interferir en los factores de coagulación, proteínas como de plaquetas, suponiendo un riesgo de retención hídrica intensa provocando edema si existiera un déficit proteico marcado.⁽⁴⁰⁾

5.4.3.1 Mecanismo de acción

El suero fisiológico ha demostrado no causar daños tanto en los tejidos como en las células por la semejanza de sus componentes, contribuye con la lubricación del conducto como el desbridamiento del mismo, ejerce su acción con destrucción química baja de la materia producida por los microorganismos y disuelve mecánicamente tejidos que son inaccesibles siendo esta su principal ventaja. Su acción es principalmente mecánica que química otorgado por un mayor volumen utilizado.⁽⁴¹⁾

5.4.3.2 Uso en endodoncia

Lo recomiendan como irrigador por sus propiedades mecánicas ya que se ha demostrado que repele los detritos de los conductos con similar eficacia que el hipoclorito de sodio, con la ventaja que minimiza la irritación y la inflamación de los tejidos por su contenido débil, lo que no sucede con el hipoclorito de sodio. Es usado en tratamiento de conducto por sus

características de brindar lubricación al conducto, limpieza por su arrastre mecánico, además que controla hemorragias por su biocompatibilidad. ⁽⁴¹⁾

5.4.3.3 Uso con Hidróxido de Calcio

El Hidróxido de Calcio al ser una sustancia antimicrobiana su uso como medicamento intraconducto es indispensable por tal motivo el suero fisiológico ha servido a este como vehículo por mayor velocidad de difusión como de disociación de los iones hidroxilos lo que permitirá la eliminación de microorganismos. Según estudios realizados han demostrado ser el segundo vehículo que mejor ha funcionado después del propilenglicol liberando 270 ppm en un lapso de 30 días contribuyendo a mejoras lesiones periapicales. ⁽⁴²⁾

5.5. Antibióticos efectivos contra *Enterococcus faecalis*

5.5.1 Ampicilina

La ampicilina es un antibiótico betalactámico que se usa frecuentemente en medicina, los betalactámicos son la familia más numerosa de antibacterianos, su acción suele ser lenta y depende del tiempo, logra una escasa toxicidad y una excelente distribución a nivel orgánico general. ⁽³⁶⁾

5.5.1.1 Mecanismo de acción

El mecanismo de acción de la ampicilina es causar la inhibición cuando se encuentra la bacteria en su última etapa de la síntesis de la pared bacteriana, eliminando por completo su pared volviéndose bactericida eliminando tanto bacterias Gram positivas como Gram negativas independientemente si son aerobias o anaerobias. ⁽³⁶⁾

5.5.1.2 Acción de la ampicilina en *Enterococcus faecalis*

La ampicilina vuelve susceptible a esta bacteria a una concentración mínima de 1 y 16 mg/l siendo efectivo in vivo, la ampicilina logra crear sinergismo al ser mezclada con algunas cefalosporinas tanto in vivo como in vitro. Para otorgar un tratamiento a las infecciones por *Enterococcus faecalis* se deben tomar en cuenta distintos parámetros como la gravedad de la enfermedad, la propagación, entre otros, por lo tanto, los medicamentos varían, pero por lo general los que mayor susceptibilidad causan a esta bacteria es la ampicilina, la penicilina y la vancomicina siendo la ampicilina el medicamento preferido. ^(10,13,25,37)

5.5.2 Gentamicina

Es un antibiótico perteneciente a la familia de los aminoglucósidos que tiene como función tratar infecciones urinarias altas complicadas, endocarditis, sepsis entre otros. Los amino glucósidos, aunque se utilizan de manera individual se ha comprobado su sinergia al ser combinados con betalactámicos principalmente en infecciones *enterocócicas* de difícil tratamiento como la endocarditis, posee la ventaja de tener eficacia con una sola dosis favoreciendo a disminuir riesgos de ototoxicidad y nefrotoxicidad. ^(43,44)

5.5.2.1 Mecanismo de acción

Los amino glucósidos van actuar principalmente en la subunidad 30S inhibiendo la síntesis de proteínas por modificación enzimática de la molécula, mutación ribosómica o alteración de la difusión conduciendo a la muerte del microorganismo. Los aminoglucósidos actúan frente a bacilos Gram negativos aerobios. ⁽⁴³⁾

5.5.2.2 Acción de la gentamicina frente a *Enterococcus faecalis*

Los *Enterococcus* poseen la característica de poseer una resistencia intrínseca a los aminoglucósidos por un déficit durante el transporte por la membrana por tal razón al ser combinados con un antimicrobiano que tenga la capacidad de actuar frente a la pared bacteriana como betalactámicos o glucopéptidos, provoca un sinergismo bactericida frente a *Enterococcus* tanto *faecalis* como *faecium*. ⁽⁴³⁾

6. METODOLOGÍA

6.1 Tipo de Investigación

Por el método de investigación (cuantitativa), según el objetivo (aplicada), según el nivel de profundización en el objeto de estudio (descriptiva), según la manipulación de variables (experimental), según el tipo de inferencia (hipotética-deductiva), según el periodo temporal (transversal).

6.2 Diseño de Investigación

La investigación utilizó un método de investigación cuantitativo y el diseño experimental usado fue un diseño completo al azar que contó con el siguiente procedimiento:

Paso 1: Obtención de la muestra

La muestra de *Enterococcus faecalis* ATCC- 29212 fue donada por la Universidad Nacional de Chimborazo.

Fotografía Nro. 1: Cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC- 29212.



Fuente: Doménica Rodríguez
Autor: Doménica Rodríguez

Paso 2: Reactivación y replicación de la cepa *Enterococcus faecalis* ATCC- 29212.

La reactivación y la replicación de la cepa fue realizada en el Laboratorio de microbiología de la UNACH campus centro. Para el procedimiento se utilizó el agar cerebro corazón (BHI) con el cual se realizó la reactivación como la replicación de la cepa inoculando e incubando por 48 horas a 37°, confirmando su viabilidad por el crecimiento bacteriano en el agar.

Fotografía Nro. 2: Replicación y activación del *E. faecalis* ATCC-29212



Fuente: Doménica Rodríguez
Autor: Doménica Rodríguez

Fotografía Nro. 3: Crecimiento de la cepa



Fuente: Doménica Rodríguez
Autor: Doménica Rodríguez

Paso 3: Identificación de *Enterococcus faecalis* ATCC- 29212.

La identificación se llevó a cabo en el laboratorio Clínico Dra. Carmen Narváez para confirmar la muestra donada.

Paso 4: Procedimiento realizado en el laboratorio

El procedimiento se realizó en el laboratorio de microbiología de Ingeniería de la UNACH campus norte Ms. Edison Riera R. El medio de cultivo para sembrar al *Enterococcus faecalis* fue el agar cerebro corazón el cual fue preparado con un peso calculado previamente y añadido con agua destilada al mismo momento que se calentaba para que quedara una mezcla homogénea para preparar 15 cajas Petri. Se esterilizó a 128° por 20 minutos.

Se utilizó el método Kirby-Bauer o mejor conocido como método de difusión en agar, donde se colocó en 15 cajas Petri un inóculo de *Enterococcus faecalis* a una concentración de turbidez igual a la escala McFarland de 0,5.

Fotografía Nro. 4: Cultivo puro de *Enterococcus faecalis* ATCC- 29212



Fuente: Doménica Rodríguez
Autor: Doménica Rodríguez

Con ayuda de hisopos estériles se introdujo en el tubo de ensayo que contenía a la bacteria, rotando la cabeza del hisopo en la pared del tubo y con la técnica de hisopado se sembró en toda la superficie del agar cerebro corazón, todo este procedimiento se lo llevó a cabo cerca del mechero.

Fotografía Nro. 5: Inoculación de la bacteria en el agar cerebro corazón



Fuente: Doménica Rodríguez
Autor: Doménica Rodríguez

Una vez sembrada la bacteria se procedió a preparar las mezclas, el tratamiento 1 consistió en la mezcla de Hidróxido de Calcio + propilenglicol, las dosis que fueron colocadas eran las equivalentes a una cuchara dosificadora, se colocó en la proporción de (1.1/2: 1) de Hidróxido de Calcio y de propilenglicol las cuales fueron colocadas con un gotero para llenarla se necesitó 8 gotas. Para el tratamiento 2 se mezcló Hidróxido de Calcio + paramonoclorofenol en las mismas dosis utilizadas para el tratamiento 1.

Fotografía Nro. 6: Mezcla de Hidróxido de Calcio + propilenglicol



Fuente: Doménica Rodríguez
Autor: Doménica Rodríguez

Fotografía Nro. 7: Mezcla de Hidróxido de Calcio + paramonoclorofenol



Fuente: Doménica Rodríguez
Autor: Doménica Rodríguez

Para el tratamiento 3 se mezclaron Hidróxido de Calcio + ampicilina + propilenglicol + gentamicina en una proporción de (1: 1: 1: 1), la ampicilina fue de 500 mg triturada por un pistilo y mortero, y la gentamicina al 0,3%.

Fotografía Nro. 8: Mezcla de Hidróxido de Calcio + ampicilina + gentamicina + propilenglicol



Fuente: Doménica Rodríguez
Autor: Doménica Rodríguez

Para el tratamiento 4 se mezcló Hidróxido de Calcio + suero fisiológico en una dosis de (1.1/2: 1) con la cuchara dosificadora.

Fotografía Nro. 9: Mezcla de Hidróxido de Calcio + suero fisiológico



Fuente: Doménica Rodríguez
Autor: Doménica Rodríguez

Una vez listas las mezclas con una pinza estéril se van colocando los discos de papel filtro previamente separados para cada tratamiento y una vez embebidos en las preparaciones son colocados en cada caja Petri previamente rotulada, colocándose dos discos del mismo medicamento con el control negativo que es agua destilada realizando por triplicado de igual manera para el control positivo se colocó un disco con una pasta comercial de Hidróxido de Calcio. Luego de haber terminado se procede a sellar correctamente las cajas Petri colocando parafina, se las coloca en la estufa a 37° para posteriormente observar y medir los halos.

Paso 5: Lectura de los halos de inhibición

Los halos de inhibición son aquellos donde no existe crecimiento bacteriano alrededor de los discos de papel filtro colocados en el cultivo en donde se encuentra la bacteria, al tercer día se procede a medir con la ayuda de una regla milimetrada cada tratamiento y son registrados los valores en la bitácora los cuales serán comparados con la escala de Duraffourd, al séptimo día se acude otra vez para comparar si a mayor tiempo hay mayor crecimiento del halo de inhibición.

6.3 Población

Conjunto de Cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC- 29212 donada por la Universidad Nacional de Chimborazo.

6.4 Criterio de Selección

- Cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC- 29212
- Hidróxido de Calcio
- Propilenglicol
- Paramonoclorofenol
- Ampicilina de 500 mg
- Gentamicina 0.3%

6.5 Entorno

Laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional de Chimborazo en el campus centro y norte.

6.6 Recursos

Tabla Nro. 1: Bienes

Cantidad	Descripción	P. Unit (\$.)	Total (\$.)
1	Agar (BHI) cerebro corazón	100	100
1	Discos de papel filtro	16	16
1	Hidróxido de Calcio	8	8
1	Propilenglicol	1	1
1	Paramonoclorofenol	6	6
60	Cajas Petri	0,30	18
4	Tubos de vidrio	0,30	1,20
5	Eppendorf	0,35	1,75
3	Resma de papel	6	18
1	Tinta para impresora	45	45
1	Cd regrabable con carátula	2.50	2.50
1	Escaneo	30	30
1	Empastado de tesis	15	15
1	Otros materiales de escritorio	20	20
		TOTAL	\$/ 282.45

Fuente: Doménica Rodríguez
Autor: Doménica Rodríguez

Tabla Nro. 2: Servicios

Descripción	Total (\$.)	Total (\$.)
Internet	30	30
Luz	20	40
Teléfono	20	40
Transporte	10	120
	TOTAL	230

Fuente: Doménica Rodríguez
Autor: Doménica Rodríguez

Tabla Nro. 3: Humanos

Integrantes	Doménica Rodríguez Dra. Silvia Reinoso
-------------	---

Fuente: Doménica Rodríguez

Autor: Doménica Rodríguez

6.7 Técnicas e instrumentos

6.7.1 Técnicas

Las técnicas utilizadas fueron la observación y medición

6.7.2 Instrumentos

El instrumento que se utilizó es la bitácora donde se registró los resultados comparando con los valores propuestos por Duraffourd que se encuentra validada por constructo. ⁽³⁸⁾ (Ver Anexo 1).

6.8 Análisis estadístico

Para la comprobación de los objetivos de estudio se utilizó un ANOVA, técnica que permite ejecutar comparaciones de medias entre los tratamientos (medicamentos combinados con Hidróxido de Calcio) y elegir al tratamiento más idóneo luego de la medición de los halos del microorganismo *Enterococcus faecalis* luego del procedimiento mostrado en el diseño de la investigación.

6.9 Operacionalización de las variables

6.9.1 Variable independiente:

Tabla Nro. 4: Medicamentos antimicrobianos con Hidróxido de Calcio

CARACTERIZACIÓN	DIMENSIÓN	INDICADOR	TÉCNICA	INSTRUMENTO
<p>El efecto antibacteriano que poseen los medicamentos de uso endodóntico son capaces de controlar la actividad enzimática de las bacterias actuando en su crecimiento y desarrollo dependiendo del tiempo que se encuentre en contacto con el medicamento, aunque sus propiedades son excelentes al trabajar solo, existen vehículos hidrosolubles que pueden potenciar su acción al asociarlos con Hidróxido de Calcio.</p>	<p>Efecto antibacteriano</p>	<p>Difusión en agar (medida de discos en mm).</p> <p>-Nula (menor o igual a 8 mm) -Sensible (de 9 a 14 mm) -Muy sensible (de 15 a 19 mm) -Sumamente sensible (igual o superior a 20 mm)</p>	<p>Observación y Medición</p>	<p>Bitácora y Escala de Duraffourd</p>

Fuente: Doménica Rodríguez
 Autor: Doménica Rodríguez

6.9.2 Variable dependiente:

Tabla Nro. 5: Susceptibilidad de *Enterococcus faecalis*

CARACTERIZACIÓN	DIMENSIÓN	INDICADOR	TÉCNICA	INSTRUMENTO
<p>El <i>Enterococcus faecalis</i> es una bacteria en forma de cocos, gram positiva, causante del fracaso endodóntico atribuido a una característica propia de su especie que es la baja susceptibilidad que le permite sobrevivir y crecer en microambientes que pudieran ser tóxicos para una bacteria normal, siendo inmune para una serie de medicamentos utilizados tanto en el campo odontológico como médico.</p>	<p>Identificación del género de <i>Enterococcus</i></p> <p>Identificación de la especie <i>Enterococcus faecalis</i></p>	<p>Pruebas bioquímicas como:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Catalasa (-) • Oxidasa (-) • Bilis esculina (+) • Sorbitol (+) • Arabinosa (-) • BHI NaCl 6,5% (+) • Motilidad (-) 	<p>Observación e identificación</p>	<p>Bitácora</p>

Fuente: Doménica Rodríguez
 Autor: Doménica Rodríguez

7. RESULTADOS

La siguiente tabla muestra la clasificación según el tipo de sensibilidad hallada para cada una de las combinaciones de medicamentos

Tabla Nro. 6: Sensibilidad de las combinaciones de los medicamentos

NÚMERO DE MUESTRAS	HIDRÓXIDO DE CALCIO + PROPILENGLICOL (mm)	SENSIBILIDAD	HIDRÓXIDO DE CALCIO + PARAMONOCLOFENOL (mm)	SENSIBILIDAD	HIDRÓXIDO DE CALCIO + AMPICILINA + GENTAMICINA + PROPILENGLICOL (mm)	SENSIBILIDAD	HIDRÓXIDO DE CALCIO + SUERO FISIOLÓGICO (mm)	SENSIBILIDAD
1	11	Sensible	11	Sensible	24	Sumamente sensible	14	Sensible
2	16	Muy Sensible	14	Sensible	22	Sumamente sensible	22	Sumamente sensible
3	21	Sumamente sensible	13	Sensible	24	Sumamente sensible	13	Sensible
4	9	Sensible	13	Sensible	16	Muy sensible	26	Sumamente sensible
5	12	Sensible	12	Sensible	24	Sumamente sensible	25	Sumamente sensible
6	23	Sumamente sensible	15	Muy sensible	25	Sumamente sensible	14	Sensible
MEDIA	15,33	Muy Sensible	13	Sensible	22,50	Sumamente sensible	19	Muy Sensible
DESV. ESTÁNDAR	5,7		1,4		3,3		6	

Fuente: Bitácora
Autor: Doménica Rodríguez

7.1 Estudio inicial de los Tratamientos

7.1.1 Planteamiento de Hipótesis

$H_0: \mu_{\text{Hidróxido de Calcio+propilenglicol}} = \mu_{\text{Hidróxido de Calcio+paramonoclorofenol}}$

$= \mu_{\text{Hidróxido de Calcio+ampicilina+ gentamicina+propilenglicol}}$

$= \mu_{\text{Hidróxido de Calcio+suero fisiológico}}$

H_1 : Al menos 1 de las medias es diferente

Nivel de significancia

$\alpha = 0,05$

Estadístico de Prueba

Tabla Nro. 7: Análisis de varianza de los tratamientos con Hidróxido de Calcio (mediciones iniciales)

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	300,167	3	100,056	5,463	,007
Dentro de grupos	366,333	20	18,317		
Total	666,500	23			

Fuente: Datos procesados en SPSS

Autor: Doménica Rodríguez

Región de Rechazo

Val \hat{r} $p \leq \alpha$ Rechazar de la hipótesis nula

Decisión

En la tabla 1 dado un valor p de 0,007 menor a nivel de significancia (0,05) se rechaza la hipótesis nula y se concluye que al menos una de las medias de los tratamientos de Hidróxido de Calcio + propilenglicol, Hidróxido de Calcio + paramonoclorofenol, Hidróxido de Calcio + ampicilina + gentamicina+ propilenglicol, Hidróxido de Calcio + suero fisiológico fue diferente para inhibir el *Enterococcus faecalis*.

Tabla Nro. 8: Comparación de medias de tratamientos con Hidróxido de Calcio (mediciones iniciales)

Comparaciones múltiples según Tukey

(I) TRATAMIENTOS	(J) TRATAMIENTOS	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
HIDRÓXIDO DE CALCIO + PROPILENGLICOL	HIDRÓXIDO DE CALCIO + PARAMONOCLOROFENOL	4,000	2,471	,391	-2,92	10,92
	HIDRÓXIDO DE CALCIO + AMPICILINA+ GENTAMICINA + PROPILENGLICOL	-5,833	2,471	,118	-12,75	1,08
	HIDRÓXIDO DE CALCIO + SUERO FISIOLÓGICO	-1,833	2,471	,879	-8,75	5,08
HIDRÓXIDO DE CALCIO + PARAMONOCLOROFENOL	HIDRÓXIDO DE CALCIO+ PROPILENGLICOL	-4,000	2,471	,391	-10,92	2,92
	HIDRÓXIDO DE CALCIO + AMPICILINA+GENTAMICINA + PROPILENGLICOL	-9,833*	2,471	,004	-16,75	-2,92
	HIDRÓXIDO DE CALCIO + SUERO FISIOLÓGICO	-5,833	2,471	,118	-12,75	1,08
HIDRÓXIDO DE CALCIO + AMPICILINA +	HIDRÓXIDO DE CALCIO + PROPILENGLICOL	5,833	2,471	,118	-1,08	12,75

GENTAMICINA + PROPILENGLICOL	HIDRÓXIDO DE CALCIO + PARAMONOCLOROFENOL	9,833*	2,471	,004	2,92	16,75
	HIDRÓXIDO DE CALCIO + SUERO FISIOLÓGICO	4,000	2,471	,391	-2,92	10,92
HIDRÓXIDO DE CALCIO + SUERO FISIOLÓGICO	HIDRÓXIDO DE CALCIO + PROPILENGLICOL	1,833	2,471	,879	-5,08	8,75
	HIDRÓXIDO DE CALCIO + PARAMONOCLOROFENOL	5,833	2,471	,118	-1,08	12,75
	HIDRÓXIDO DE CALCIO + AMPICILINA + GENTAMICINA + PROPILENGLICOL	-4,000	2,471	,391	-10,92	2,92

Fuente: Datos procesados en SPSS

Autor: Doménica Rodríguez

Análisis: Las comparaciones múltiples mostraron que el tratamiento Hidróxido de Calcio + ampicilina + gentamicina + propilenglicol presenta una significancia de 0,004, siendo este el tratamiento con mayor efectividad al momento de inhibir el *Enterococcus faecalis* (Tabla 2)

Tabla Nro. 9: Comparación de medias entre tratamientos con Hidróxido de Calcio de la revisión inicial (subconjuntos homogéneos)

MEDICION_INICIAL

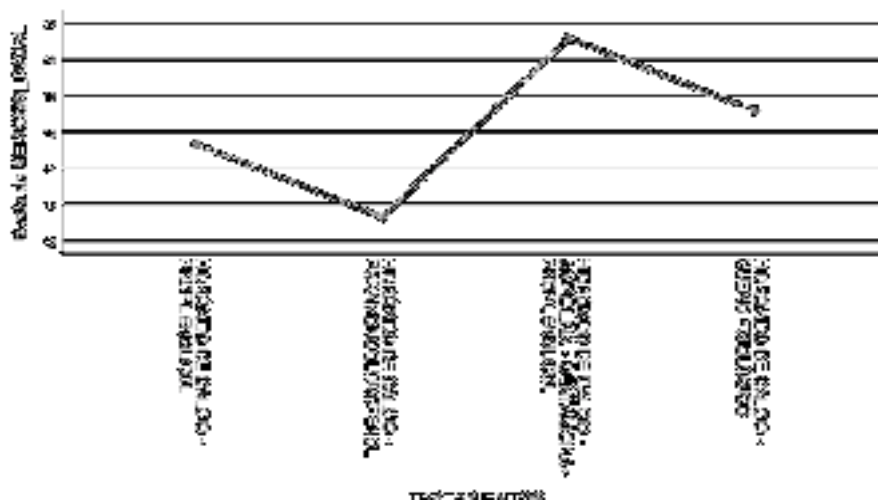
HSD Tukey^a

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
HIDRÓXIDO DE CALCIO + PARAMONOCLOFENOL	6	11,33	
HIDRÓXIDO DE CALCIO+ PROPILELICOL	6	15,33	15,33
HIDRÓXIDO DE CALCIO + SUERO FISIOLÓGICO	6	17,17	17,17
HIDRÓXIDO DE CALCIO+ AMPICILINA+GENTAMICINA + PROPILEGLICOL	6		21,17
SIG.		,118	,118

Fuente: Datos procesados en SPSS
 Autor: Doménica Rodríguez

Análisis: La tabla anexa indicó que la comparación de medias obtenidas en las mediciones iniciales mostró que el tratamiento tres conformado por Hidróxido de Calcio + ampicilina + gentamicina + propilenglicol consigue halos de inhibición más amplios, eliminando a la bacteria presente en donde se deposita como en sus alrededores.

Gráfico Nro. 1: Comparación de medias de tratamientos con Hidróxido de Calcio (medición inicial)



Fuente: Datos procesados en SPSS
 Autor: Doménica Rodríguez

Análisis: El gráfico de medias mostró que el tratamiento compuesto por Hidróxido de Calcio + ampicilina + gentamicina + propilenglicol fue el más efectivo cuando de inhibir al *Enterococcus faecalis* se trata; mientras que el tratamiento compuesto por Hidróxido de Calcio + paramonoclorofenol fue el menos efectivo.

7.2 Estudio Final de los Tratamientos

7.2.1 Planteamiento de Hipótesis

$$\begin{aligned}
 H_0: \mu_{\text{Hidróxido de Calcio+ propilenglicol}} &= \mu_{\text{Hidróxido de Calcio+ paramonoclorofenol}} \\
 &= \mu_{\text{Hidróxido de Calcio + ampicilina + gentamicina + propilenglicol}} \\
 &= \mu_{\text{Hidróxido de Calcio + suero fisiológico}}
 \end{aligned}$$

H_1 : Al menos 1 de las medias es diferente

Nivel de significancia

$$\alpha = 0,05$$

Estadístico de Prueba

Tabla Nro. 10: Análisis de varianza de los tratamientos con Hidróxido de Calcio vs Control Positivo

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	436,130	4	109,032	5,886	,002
Dentro de grupos	407,500	22	18,523		
Total	843,630	26			

Fuente: Datos procesados en SPSS

Autor: Doménica Rodríguez

Región de Rechazo

Val \hat{r} $p \leq \alpha$ Rechazar de la hipótesis nula

Decisión

El valor de probabilidad del ANOVA (0,002) mostró que es inferior al nivel de significancia (5%), por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se concluye que al menos 1 de uno de los tratamientos compuestos de Hidróxido de Calcio + propilenglicol, Hidróxido de Calcio +

paramonoclorofenol, Hidróxido de Calcio + ampicilina + gentamicina+ propilenglicol, Hidróxido de Calcio + suero fisiológico tras el paso del tiempo, fue diferente.

Tabla Nro. 11: Comparación de medias de tratamientos con Hidróxido de Calcio de revisión final (subconjuntos homogéneos)

TRATAMIENTOS	MEDICIONES			
	N	HSD Tukey ^{a,b}		
		Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
CONTROL POSITIVO	3	10,67		
HIDRÓXIDO DE CALCIO + PARAMONOCLOFENOL	6	13,00	13,00	
HIDRÓXIDO DE CALCIO+ PROPILELICOL	6	15,33	15,33	15,33
HIDRÓXIDO DE CALCIO + SUERO FISIOLÓGICO	6		19,00	19,00
HIDRÓXIDO DE CALCIO + AMPICILINA + GENTAMICINA + PROPILENGLICOL	6			22,50
Sig.		,446	,215	,098

Fuente: Datos procesados en SPSS

Autor: Doménica Rodríguez

Análisis: Tras la espera de cuatro días, luego de las mediciones iniciales las comparaciones de medias globales volvió a indicar que el tratamiento tres conformado por Hidróxido de Calcio + ampicilina + gentamicina + propilenglicol elevó sus halos de inhibición en aproximadamente 2 mm lo que ubicó al mismo como el tratamiento ganador para la erradicación del microorganismo.

Tabla Nro. 12: Diagnóstico de medias de los tratamientos con Hidróxido de Calcio vs el Control Positivo

Comparaciones múltiples según Tukey						
(I) TRATAMIENTOS	(J) TRATAMIENTOS	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
HIDRÓXIDO DE CALCIO + PROPILENGLICOL	HIDRÓXIDO DE CALCIO + PARAMONOCLOROFENOL	2,333	2,485	,879	-5,04	9,71
	HIDRÓXIDO DE CALCIO + AMPICILINA + GENTAMICINA + PROPILENGLICOL	-7,167	2,485	,059	-14,54	,21
	HIDRÓXIDO DE CALCIO + SUERO FISIOLÓGICO	-3,667	2,485	,588	-11,04	3,71
	CONTROL POSITIVO	4,667	3,043	,553	-4,36	13,70
HIDRÓXIDO DE CALCIO + PARAMONOCLOROFENOL	HIDRÓXIDO DE CALCIO + PROPILENGLICOL	-2,333	2,485	,879	-9,71	5,04
	HIDRÓXIDO DE CALCIO + AMPICILINA + GENTAMICINA + PROPILENGLICOL	-9,500*	2,485	,007	-16,87	-2,13

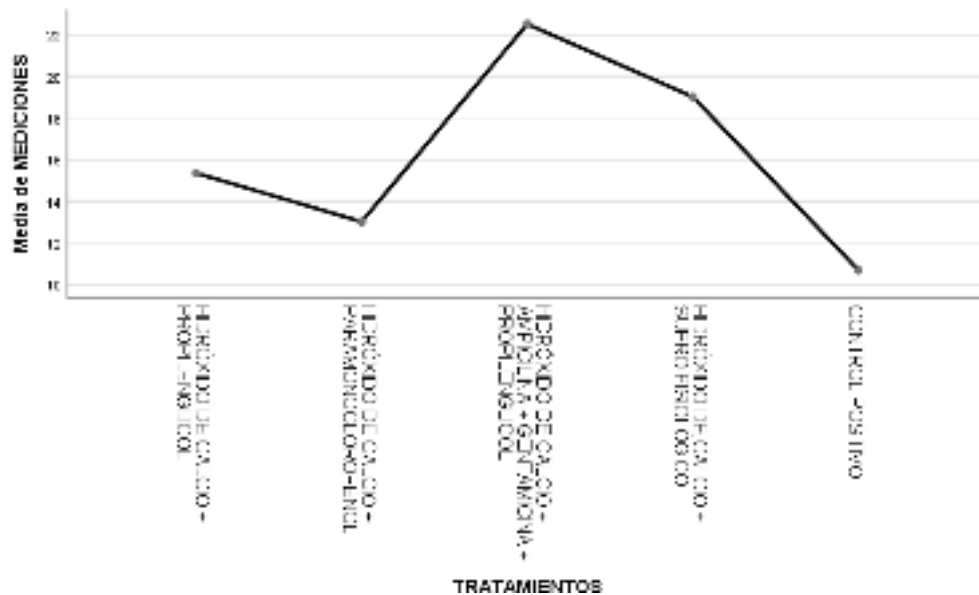
	HIDRÓXIDO DE CALCIO + SUERO FISIOLÓGICO	-6,000	2,485	,149	-13,37	1,37
	CONTROL POSITIVO	2,333	3,043	,937	-6,70	11,36
HIDRÓXIDO DE CALCIO + AMPICILINA + GENTAMICINA + PROPILENGLICOL	HIDRÓXIDO DE CALCIO + PROPILENGLICOL	7,167	2,485	,059	-,21	14,54
	HIDRÓXIDO DE CALCIO + PARAMONOCLOROFENOL	9,500*	2,485	,007	2,13	16,87
	HIDRÓXIDO DE CALCIO + SUERO FISIOLÓGICO	3,500	2,485	,629	-3,87	10,87
	CONTROL POSITIVO	11,833*	3,043	,006	2,80	20,86
HIDRÓXIDO DE CALCIO + SUERO FISIOLÓGICO	HIDRÓXIDO DE CALCIO + PROPILENGLICOL	3,667	2,485	,588	-3,71	11,04
	HIDRÓXIDO DE CALCIO + PARAMONOCLOROFENOL	6,000	2,485	,149	-1,37	13,37
	HIDRÓXIDO DE CALCIO + AMPICILINA + GENTAMICINA + PROPILENGLICOL	-3,500	2,485	,629	-10,87	3,87
	CONTROL POSITIVO	8,333	3,043	,080	-,70	17,36

CONTROL POSITIVO	HIDRÓXIDO DE CALCIO + PROPILENGLICOL	-4,667	3,043	,553	-13,70	4,36
	HIDRÓXIDO DE CALCIO + PARAMONOCLOROFENOL	-2,333	3,043	,937	-11,36	6,70
	HIDRÓXIDO DE CALCIO + AMPICILINA + GENTAMICINA + PROPILENGLICOL	-11,833*	3,043	,006	-20,86	-2,80
	HIDRÓXIDO DE CALCIO + SUERO FISIOLÓGICO	-8,333	3,043	,080	-17,36	,70

Fuente: Datos procesados en SPSS
Autor: Doménica Rodríguez

Análisis: La tabla de comparaciones globales de medias (Tabla 4) mostró que el tratamiento de Hidróxido de Calcio + ampicilina + gentamicina + propilenglicol presentó una significancia de 0,007 en comparación al control positivo, siendo este el tratamiento con mayor efectividad al momento de inhibir el *Enterococcus faecalis* y cuestionando los resultados del tratamiento hasta la actualidad usado por la mayoría de profesionales del área odontológica.

Gráfico Nro. 2: Diagnóstico de medias de los tratamientos con Hidróxido de Calcio vs Control Positivo



Fuente: Datos procesados en SPSS
Autor: Doménica Rodríguez

Análisis: El gráfico 2 de medias demostró que el tratamiento de Hidróxido de Calcio+ ampicilina + gentamicina + propilenglicol siguió siendo el más efectivo para de inhibir al *Enterococcus faecalis*; mientras que el control positivo utilizado en la investigación presento resultados inferiores al tratamiento ganador.

8. DISCUSIÓN

En la presente investigación se compara entre Hidróxido de Calcio + propilenglicol, Hidróxido de Calcio + paramonoclorofenol, Hidróxido de Calcio + ampicilina + gentamicina + propilenglicol, y por último Hidróxido de Calcio + suero fisiológico donde los resultados arrojaron que el Hidróxido de Calcio + ampicilina + gentamicina + propilenglicol es el medicamento antimicrobiano ideal en la inhibición del *Enterococcus faecalis*. Aunque actualmente no existen estudios que traten acerca de la combinación de antibióticos con Hidróxido de Calcio, la combinación de los antibióticos concuerda con estudios ⁽⁴⁵⁾ donde afirma que por las distintas variaciones de resistencias intrínsecas o adquiridas que presenta el microorganismo en cuestión, la ampicilina es considerada como una terapia estándar para la eliminación de este microorganismo, resaltando que su uso conjunto con un aminoglucósido permite producir un efecto de sinergismo que propicia una mayor actividad bactericida de los antibióticos.

Por otro lado, un estudio ⁽⁴⁶⁾ menciona que el 100% de las muestras de *Enterococcus faecalis* que fueron utilizadas resultaron ser sensibles a la ampicilina con sus respectivas resistencias a altas dosis, reafirmando que para lograr un efecto óptimo bactericida es recomendable contar con un antibiótico que actúe en la pared como lo hacen los betalactámicos más un aminoglucósido para conseguir sinergia y potenciar el efecto bactericida frente al microorganismo indeseable, menciona también que el grupo de *Enterococcus* se muestra con un grado bajo de resistencia intrínseca hacia los aminoglucósidos por tal razón no impide en nada su efecto sinérgico representado por la gentamicina que es el aminoglucósido más potente de su grupo donde si existiese resistencia a este produciría lo mismo con los otros de su grupo, mientras que otra investigación ⁽⁴³⁾ indica que esta si la resistencia es adquirida del microorganismo se convierte en resistencia de alto nivel frente a la gentamicina causando la anulación de sinergia producida de la unión de los antibióticos.

De acuerdo con un artículo científico ⁽⁴⁷⁾ donde se evalúa la sensibilidad del *Enterococcus faecalis* a diferentes antimicrobianos los que mayor sensibilidad son los del grupo de antibióticos betalactámicos los cuales tienen como representantes a ampicilina y amoxicilina más ácido clavulánico con el 98% y 99% respectivamente, seguidamente los antibióticos del grupo aminoglucósido son los segundos mejores donde la gentamicina causó mayor efecto en comparación con la estreptomina con un porcentaje de 76% y 56% respectivamente logrando un buen efecto de sensibilidad al *Enterococcus faecalis* actuando

independientemente tanto la ampicilina como la gentamicina lo que supone una buena alianza al combinar dichos medicamentos para el deseado fin tal y como sucede en la presente investigación donde la mezcla de ambos medicamentos más la suma de Hidróxido de Calcio y propilenglicol logro dar como resultados halos de inhibición que oscilaron entre 16 mm a 25 mm dando una media de 22,50 lo que significó que según la escala de Duraffourd produce en el *Enterococcus faecalis* un efecto sumamente sensible tanto al tercer día como al séptimo día que normalmente es el tiempo estimado en dejar un medicamento intraconducto, siendo propicio para la erradicación del mismo.

El efecto del pH alcalino que tiene el Hidróxido de Calcio lo convierte en el medicamento intraconducto ideal en los tratamientos de endodoncia, la adicción de un buen vehículo potencia sus propiedades tal como menciona el estudio ⁽⁴²⁾ que realizó comparaciones del mejor vehículo para el Hidróxido de Calcio mediante espectrometría resultando como ganador el propilenglicol que por sus cualidades logra una liberación de 580 ppm de iones de calcio al séptimo día, seguido del polietilenglicol y posteriormente del suero fisiológico lo que discrepa con la presente investigación donde el segundo mejor es Hidróxido de Calcio + suero fisiológico por su capacidad inhibitoria forma halos de mayor dimensión que en los utilizados con Hidróxido de Calcio + propilenglicol, según el estudio ⁽⁴⁸⁾ menciona que la mezcla de Hidróxido de Calcio y suero fisiológico forma halos de inhibición que oscila entre 14 mm a 16 mm lo que significa que causa susceptibilidad sin embargo en la investigación da como resultado una media de 19 mm para la mezcla de Hidróxido de Calcio + suero fisiológico y una media de 15, 33 mm para Hidróxido de Calcio + propilenglicol lo que indica que según la escala de Duraffourd los dos causan el mismo efecto de “muy sensible” siendo estos componentes otra alternativa de medicamentos intraconductos.

Por razón de que ampicilina + gentamicina combinados producen sinergia contra el microorganismo en cuestión, e Hidróxido de Calcio + propilenglicol causan un efecto de “muy sensible” frente a *Enterococcus faecalis* la mezcla de estos cuatro componentes hacen que en función de grupo tengan una acción superior a todos los medicamentos tratados anteriormente suponiendo una excelente alternativa al momento de usarse como medicamento intraconducto.

9. CONCLUSIONES

- Con el 95% de confianza en el contraste de comparación de medias ANOVA se concluye que el tratamiento más efectivo para inhibir al *Enterococcus faecalis* ATCC-29212 es el de Hidróxido de Calcio más ampicilina, gentamicina y propilenglicol.
- En promedio la sensibilidad obtenida con del tratamiento 1 (Hidróxido de Calcio + propilenglicol) fue de $15,33 \text{ mm} \pm 5,7$ comparada con la escala de Duraffourd siendo “Muy Sensible”, además el análisis estadístico demuestra que ocupa el tercer lugar en cuanto a inhibición bacteriana en relación a los otros medicamentos de estudio .
- Al aplicar el tratamiento 2 (Hidróxido de Calcio + paramonoclorofenol) se cuenta con un promedio de $13 \text{ mm} \pm 1,4$ lo que es atribuible a la categoría de “Sensible” aunque produce inhibición del microorganismo lo hace en un rango más bajo que los otros tratamientos aplicados, posicionándose como el cuarto medicamento basado en lo estadístico.
- Tras la combinación de antibióticos de amplio espectro como ampicilina de 500 mg y gentamicina al 0,3% causa sinergia más la adición de Hidróxido de Calcio con propilenglicol los resultados son notables, su promedio es de $22,50 \text{ mm} \pm 3,3$ designándole una categoría de “Sumamente Sensible” según la escala de Duraffourd, ubicándose en el primer lugar de causar susceptibilidad a la cepa de *E. faecalis* ATCC-29212.
- El tratamiento 4 (Hidróxido de Calcio + suero fisiológico) presenta una media de $19 \text{ mm} \pm 6$ causando un efecto de “Muy Sensible” en la bacteria siendo el segundo medicamento que mayor inhibición produce.

10.RECOMENDACIONES

- El medicamento intraconducto que se recomienda en primer lugar es la mezcla de Hidróxido de Calcio + ampicilina + gentamicina + propilenglicol se consiguen buenos resultados contra la eliminación del *Enterococcus faecalis* como segunda opción se recomienda Hidróxido de Calcio + suero fisiológico, como también de Hidróxido de Calcio + propilenglicol ya que solo varían por unos milímetros y en último lugar Hidróxido de Calcio + paramonoclorofenol que aunque causa susceptibilidad es el menos eficaz.
- Se sugiere utilizar este medicamento por 7 días ya que incrementa el potencial de acción de sus componentes lo que permite erradicar a la bacteria durante este lapso de tiempo.
- Es necesario realizar más estudios de este tipo para determinar si tiene la misma efectividad in vitro que in vivo, además si no causa ningún efecto adverso en las personas como alergia, mantiene su pH el Hidróxido de Calcio o si produce algún compuesto indeseable por los antibióticos que se están usando.

11. REFERENCIAS

1. Rahul K, Jayashree A, Vasundhara S, Vandana R, Rahul H. Eficacia antibacteriana de las nanopartículas de plata biosintetizadas contra la biopelícula de *Enterococcus faecalis*: un estudio in vitro. *Contemporary Clinical Dentistry* 2018; 9(2). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5968689/> (último acceso 23 de junio 2018).
2. Rodríguez 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* 2015; 19(3). <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1870199X15000233> (último acceso 23 de junio 2018).
3. Pardi Germán, Guilarte Carolina, Cardozo Elba Inés, Briceño Elsi Natalí. Detección de *Enterococcus faecalis* en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico. *Scielo* 2009; 47(1). http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-63652009000100014 (último acceso 27 de junio 2018).
4. UNAM. *Notas para el estudio de Endodoncia: Medicamentos intraconductos y curaciones temporales*. Ricardo Rivas. <http://www.iztacala.unam.mx/rrivas/microbiologia3.html> (último acceso 08 junio 2018).
5. Molander A, Reit C, Dahlén G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. Citado por: García Ávila G, García Aranda R, Perea Mejia L. Comparación in vitro de la actividad antimicrobiana de AhPlus, RSA y Ledermix contra *Enterococcus faecalis* In vitro comparison of anti-microbial activity of AH Plus, RSA and Ledermix against *Enterococcus faecalis*. *Revista Odontológica Mexicana* 2013; 17(3): 156-160.
6. Pinheiro E, Gomes B, Ferraz C, Teixeira F, Zaia A, Souza F. Evaluation of root canal microorganisms isolated from teeth with endodontic failure and their antimicrobial susceptibility. Citado por: García Ávila G, García Aranda R, Perea Mejia L. Comparación in vitro de la actividad antimicrobiana de AhPlus, RSA y Ledermix contra *Enterococcus faecalis* In vitro comparison of anti-microbial activity of AH Plus, RSA and Ledermix against *Enterococcus faecalis*. *Revista Odontológica Mexicana* 2013; 17(3): 156-160.

7. Ardila C, Villalobos M, Arroyo E, Pérez A, Silva N. *Enterococcus faecalis* en dientes con periodontitis apical asintomática. *Revista Archivo Médico de Camagüey* 2014; 18(4). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552014000400007 (último acceso 26 de junio 2018).
8. Fonseca Pallango JS. *Evaluación microbiológica en equipos radiográficos intraorales de la clínica de radiología de la facultad de odontología de la Universidad Central del Ecuador*. Tesis de pregrado. Universidad Central del Ecuador; 2017.
9. Pardi Germán, Guilarte Carolina, Cardozo Elba Inés, Briceño Elsi Natalí. Detección de *Enterococcus faecalis* en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico. *Scielo* 2009; 47(1). http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-63652009000100014 (último acceso 27 de junio 2018).
10. Girón J, Pérez R. Tratamiento de las infecciones por enterococo. *Revista Clínica Española* 2003; 203 (10). <http://www.revclinesp.es/es/tratamiento-las-infecciones-por-enterococo/articulo/13051438/> (último acceso 27 de junio 2018).
11. Ceac. *¿Qué es la resistencia bacteriana y cómo afecta a nuestra salud?*. Laura Garbayo. <https://www.ceac.es/blog/que-es-la-resistencia-bacteriana-y-como-afecta-nuestra-salud> (último acceso 08 junio 2018).
12. Manual MSD. *Versión para profesionales: Infecciones por enterococos*. Larry Bush y Maria T. Perez. <https://www.msdmanuals.com/es-ec/professional/enfermedades-infecciosas/cocos-grampositivos/infecciones-por-enterococos> (último acceso 08 junio 2018).
13. Medical News Today. *What's to know about Enterococcus faecalis?*. Jayne Leonard. <https://www.medicalnewstoday.com/articles/318337.php> (último acceso 08 junio 2018).
14. Marashdeh M, Gitalis R, Levesque C, Finer Y. *Enterococcus faecalis* Hydrolyzes Dental Resin Composites and Adhesives. *Journal of Endodontics* 2018; 44(4). [https://www.jendodon.com/article/S0099-2399\(17\)31305-5/fulltext](https://www.jendodon.com/article/S0099-2399(17)31305-5/fulltext) (último acceso 28 de octubre 2018).
15. Díaz Pérez M, Rodríguez Martínez C, Zhurbenko R. Aspectos fundamentales sobre el género *Enterococcus* como patógeno de elevada importancia en la actualidad. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología* 2010; 48(2): 147-161.
16. Chandwani M, Chandak S. Evaluación de anaerobios facultativos de los conductos radiculares de molares deciduos: un estudio in vivo. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects* 2017; 11(2). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5520000/> (último acceso 28 de octubre 2018).

17. Codeinep. *Enterococcus*. Silvia Acosta. <http://codeinep.org/wp-content/uploads/2017/02/Enterococcus.pdf> (último acceso 08 junio 2018).
18. Ran S, Chu M, Gu S, Wang J, Liang J. *Enterococcus faecalis* induce apoptosis y piroptosis de células MG63 osteoblásticas humanas a través del inflammasoma NLRP3. *International Endodontic Journal* 2018; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29904931> (último acceso 28 de octubre 2018).
19. Stenhouse M, Zilm P, Ratnayake J, Cathro P. Investigation of the effect of rapid and slow external pH increases on *Enterococcus faecalis* biofilm grown on dentine. *Australian Dental Journal* 2018; 63(2). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29327470> (último acceso 28 de octubre 2018).
20. ATCC. *Enterococcus faecalis* (ATCC® 29212™). [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/29212%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/29212%20(1).pdf) (último acceso 08 junio 2018).
21. Fernandes Zancan R, Furquim Canali L, Tartari T, Bombarda F, Ricci Vivian R, Hungaro Duarte M. Do different strains of E. faecalis have the same behavior towards intracanal medications in vitro research?. *Revista Scielo Investigación Oral Brasileña* 2018; 32(46). http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-83242018000100238&lng=en (último acceso 28 de octubre 2018).
22. Burgos Zamorano F. *Medicación Intraconducto en Endodoncia*. Tesis doctoral. Universidad de Valparaiso; 2013.
23. Muñoz Cruzatty J, Arteaga Espinoza S, Alvarado Solórzano A. Observaciones acerca del uso del Hidróxido de Calcio en la endodoncia. *Revista Científica Dominio de la Ciencias* 2017; 4(1): 352-361.
24. Srinivas S, Jibhkate NG, Barnwal R, Avinash A, Tandil Y, Rathi S. Propilenglicol: una nueva alternativa para un medicamento intracanal. *Journal International Oral Health* 2016; 8 (5): 611-614.
25. Rodríguez R (ed.) *Vam Vademecum Académico de Medicamentos*. 5ª ed. México: Mcgraw-Hill Interamericana Editores; 2013.
26. Calderón C, Ximénez F, Chávez B. Estudio comparativo in vitro de la capacidad antibacteriana de la clorhexidina, Hidróxido de Calcio y yoduro de potasio yodado contra *Fusobacterium nucleatum*. *Revista Odontológica Mexicana* 2007; 11(1). <http://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=11812> (ultimo acceso 09 junio 2018).

27. Elizondo L, López F, Treviño R. Hidróxido de Calcio. *Revista Mexicana de Estomatología* 2017; 4(2): 59-60.
28. Rodríguez G, Álvarez M, García J, Arias S, Más M. El Hidróxido de Calcio: su uso clínico en la endodoncia actual. *Scielo* 2005; 9(3).
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552005000300016
(último acceso 08 junio 2018).
29. Fernández Monjes J, Maresca Beatriz M. Consideraciones sobre el uso del hidróxido de calcio y el ión calcio en endodoncia. *Revista del Ateneo Argentino de Odontología* 2008; 47(2): 10-15.
30. Sáez M. Acción antibacteriana de pastas de Hidróxido de Calcio frente a *Enterococcus faecalis*. *Cuartas Jornadas de Jóvenes Investigadores UNT - CONICET* 2010. 22-26 junio 2010, Tucuman. <http://scait.ct.unt.edu.ar/pubjornadas2010/trabajos/115.pdf>
(último acceso 28 de octubre 2018).
31. Cuida tu dinero. *Usos del propilenglicol en la vida diaria*. Carolyn Green. <https://www.cuidatudinero.com/13180416/usos-del-propilenglicol-en-la-vida-diaria>
(último acceso 08 junio 2018).
32. Alata Marcavillaca A, Reyes Jiménez O, Ramos Quenaya G, Ortega Cruz H. Actividad antibacteriana in vitro del propilenglicol ozonizado (Endozone®) sobre *Enterococcus faecalis* en conductos radiculares de dientes de bovino. *Revistas de investigación UNMSM* 2018; 21(2).
<http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/odont/article/view/14764> (último acceso 29 de octubre 2018).
33. Ferreira M. Medicación Intraconducto Empleada en la Terapia Endodóntica de Dientes con Necrosis Pulpar en el Postgrado de Endodoncia de la Universidad Central de Venezuela en el Período enero 2002 - abril 2005. *Carlos Bóveda* 2005; http://www.carlosboveda.com/Odontologosfolder/odontoinvitadoold/odontoinvitado_4_7.htm (último acceso 08 junio 2018).
34. Aguirre Tobar NS. *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.
35. Peñaloza de la Torre U, Condori Condori G. Efecto antibacteriano del paramonoclorofenol alcanforado vs la asociación de Hidróxido de Calcio paramonoclorofenol alcanforado, sobre el cultivo in vitro de *Enterococcus faecalis*. *Revista Médica Basadrina* 2016; 10(1): 16-19.

36. Suárez C, Gudiol F. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. *Elsevier* 2009; 27(2): 116-129.
37. Cercenado E. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica Enterococcus: resistencias fenotípicas y genotípicas y epidemiología en España. *Elsevier España* 2011; 29(5): 59-65.
38. Terán Velástegui GE. *Comparación de la efectividad antimicrobiana entre aceite esencial de canela y clorhexidina frente a Enterococcus faecalis. Estudio in vitro*. Tesis de pregrado. Universidad Central del Ecuador; 2016.
39. Gaceta Dental. *Importancia del Hidróxido de Calcio como medicamento intraconducto en Endodoncia. A propósito de un caso clínico*. Rodríguez Soledad
<https://www.gacetadental.com/2009/03/importancia-del-hidrxido-de-calcio-como-medicamento-intraconducto-en-endodoncia-a-propsito-de-un-caso-clnico-31678/#> (último acceso 08 junio 2018).
40. Bustamante C. Gladys, Castro Montecinos Carla Katty. Solucione Hidroelectrolíticas. *Revista de Actualización Clínica Médica* 2013; 29.
http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2304-37682013001200007&lng=es (último acceso 16 mayo 2019).
41. Leonardo M. *Endodoncia*. Tratamiento de conductos radiculares. Brasil: Artes médicas latinoamericanas, 2005.
42. Silva Herzog D, Andrade Velásquez L, Lainfiesta Rímola J. Comparación del Hidróxido de Calcio como medicamento intraconducto, utilizando vehículos viscosos y acuosos. Estudio in vitro. *Revista de la Asociación Dental Mexicana* 2003; 60(1): 14-18.
43. Paulomino J, Pachón J. Aminoglucósidos. *Enfermedades Infecciosas Microbial Clin* 2003; 21(2): 105-115.
44. Maguiña Vargas C, Ugarte Gil C, Montiel M. Rational and appropriate use of antibiotics. *Acta médica peruana* 2006; 23(1): 15-20.
45. Ortega Lilia M. Enterococos: actualización. *Revista Habanera de Ciencias Médicas* 2010; 9(4).
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2010000400010 (último acceso 16 mayo 2019).
46. Sander Hélios. Enterococos resistentes a vancomicina: ¿Infección emergente inminente?. *Revista chilena de infectología* 2002; 19.
https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0716-10182002019100010&script=sci_arttext (último acceso 17 mayo 2019).

47. Causse, M., de Luna, F. F. Á., García-Mayorgas, A. D., Rodríguez, F. C. y Casal, M. Sensibilidad a los antimicrobianos de *Enterococcus faecalis* aislados de pacientes en la provincia de Córdoba (España). *Rev Esp Quimioterap* 2006; 19(2): 140-143.
48. Rodríguez, N. I. *Actividad antimicrobiana de distintos materiales utilizados en la terapia de conductos radiculares*. Tesis doctoral. Universidad de Granada; 2009.

12.ANEXOS

ANEXO A Escala de Sensibilidad según Duraffourd

Tabla Nro. 13: Sensibilidad según Duraffourd

ESCALA DE DURAFFOURD ANTE SENSIBILIDAD DE UN MEDICAMENTO		
Nula	(-)	Inferior o igual a 8 mm
Sensible	(+)	De 9 a 14 mm
Muy Sensible	(++)	De 15 a 19 mm
Sumamente sensible	(+++)	Igual o superior a 20 mm

Fuente: Doménica Rodríguez
Autor: Doménica Rodríguez

ANEXO B Sensibilidad de los tratamientos al tercer día de revisión

Tabla Nro. 14: Sensibilidad de los tratamientos al tercer día de revisión

NÚMERO DE MUESTRAS	HIDRÓXIDO DE CALCIO + PROPILENGLICOL (MM)	SENSIBILIDAD	HIDRÓXIDO DE CALCIO + PARAMONOCLOROFENOL (MM)	SENSIBILIDAD	HIDRÓXIDO DE CALCIO + AMPICILINA + GENTAMICINA + PROPILENGLICOL (MM)	SENSIBILIDAD	HIDRÓXIDO DE CALCIO + SUERO FISIOLOGICO (MM)	SENSIBILIDAD
1	11	Sensible	9	Sensible	23	Sumamente sensible	13	Sensible
2	15	Muy Sensible	10	Sensible	20	Sumamente sensible	22	Sumamente sensible
3	20	Sumamente sensible	12	Sensible	22	Sumamente sensible	12	Sensible
4	9	Sensible	12	Sensible	16	Muy sensible	24	Sumamente sensible
5	12	Sensible	11	Sensible	22	Sumamente sensible	20	Sumamente sensible
6	20	Sumamente sensible	14	Sensible	24	Sumamente sensible	12	Sensible
MEDIA	14,50	Muy Sensible	11,33	Sensible	21,17	Sumamente sensible	17,17	Muy Sensible

Fuente: Doménica Rodríguez
Autor: Doménica Rodríguez

ANEXO C Agar cerebro corazón en cajas Petri

Fotografía Nro. 10: Agar cerebro corazón en cajas Petri



ANEXO D Mezclas de medicamentos en cámara de flujo

Fotografía Nro. 11: Mezclas de medicamentos en cámara de flujo



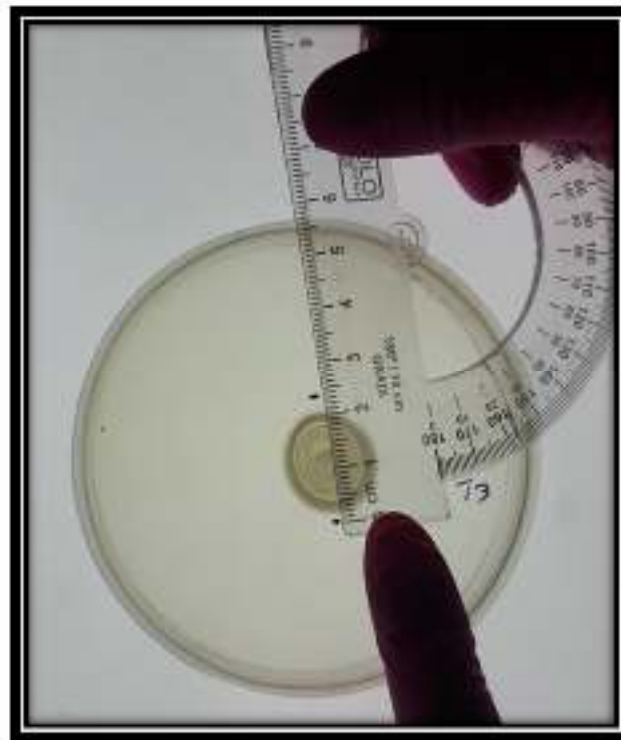
ANEXO E Mezclas del tratamiento 1, 2, 3, 4

Fotografía Nro. 12: Mezclas del tratamiento 1, 2, 3, 4.



ANEXO F Medición del tratamiento 3

Fotografía Nro. 13: Medición del tratamiento 3 (Hidróxido de Calcio + ampicilina + gentamicina + propilenglicol)



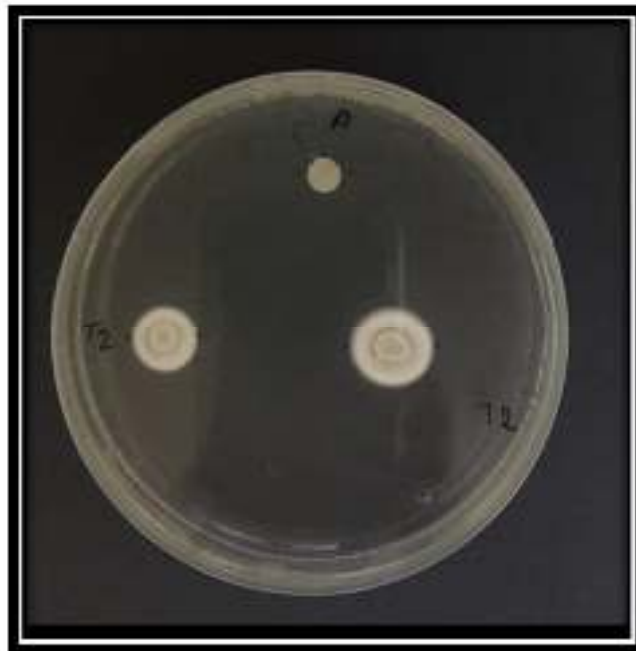
ANEXO G Exposición del tratamiento 1

Fotografía Nro. 14: Tratamiento 1 (Hidróxido de Calcio + propilenglicol)



ANEXO H Exposición del tratamiento 2

Fotografía Nro. 15: Tratamiento 2 (Hidróxido de Calcio + paramonoclorofenol)



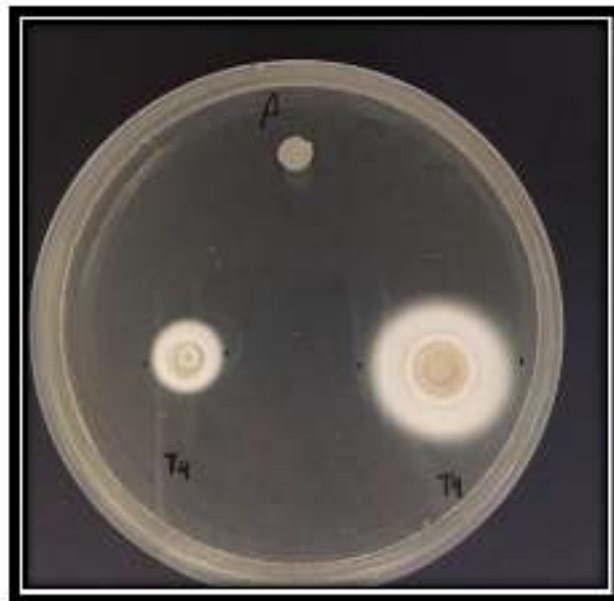
ANEXO I Exposición del tratamiento 3

Fotografía Nro. 16: Tratamiento 3 (Hidróxido de Calcio + ampicilina + gentamicina + propilenglicol)



ANEXO J Exposición del tratamiento 4

Fotografía Nro. 17: Tratamiento 4 (Hidróxido de Calcio + suero fisiológico)



ANEXO I Exposición del Control Positivo

Fotografía Nro. 18: Control Positivo

