



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA**

**TESIS**

**EFICACIA ANTIBACTERIANA IN VITRO DE ROSMARINUS  
OFFICINALIS COMPARADO CON HIPOCLORITO DE SODIO EN  
CONOS DE GUTAPERCHA CONTAMINADOS EN LA  
UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS FILIAL ICA, 2018**

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

**PRESENTADO POR:  
PAOLA SOLÍS FERNÁNDEZ**

**ASESOR:  
Dr. CD. PEDRO MARTIN JESUS APARCANA QUIJANDRIA**

**ICA, FEBRERO 2021**

**Dedicatoria:**

“A mis padres por ser el motor que me inspira a recorrer el camino hasta lograr mi propósito, que siempre estuvieron con su apoyo incondicional alentándome y dándome fuerzas para no desistir en el proceso”.

### **Agradecimiento**

“Al Dr. Pedro Aparcana Quijandría; mi asesor de tesis, quien cumplió con la gran labor de guiarme y apoyarme durante todo este proceso, en la culminación de mi tesis”.

“Al Dr. José Luis Huamaní Echaccaya por brindarme su conocimiento, por guiarme y orientarme con su amplia sabiduría, dándome la confianza y el valor para poder cumplir con mi objetivo, la tesis”.

“A la universidad Alas Peruanas por darme la oportunidad de formarme como un profesional en el área de la odontología”.

Agradecimientos especiales:

Dr. Juan J. Guillermo

Dra. Patricia Castillo

Dr. Walter Ramos

## INDICE

<b>INDICE DE CONTENIDO</b>	iv
<b>INDICE DE TABLAS</b>	vi
<b>INDICE DE FIGURAS</b>	vii
<b>RESUMEN</b>	viii
<b>ABSTRACT</b>	ix
<b>INTRODUCCIÓN</b>	x
Descripción de la realidad problemática	xi
Formulación del problema	xi
Problema general	xi
Problemas específicos	xi
Objetivos de la investigación	xii
Objetivo general	xii
Objetivos específicos	xii
Justificación de la investigación	xiii
Importancia de la investigación	xiii
Viabilidad de la investigación	xiv
Limitaciones	xiv
<b>CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO</b>	
1.1. Antecedentes de la investigación	15
1.1.1. Internacionales	15
1.1.2. Nacionales	16
1.2. Bases teóricas	17
1.3. Definición de términos básicos	27
<b>CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN</b>	
2.1. Formulación de la hipótesis principal y derivadas	28
2.1.1. Hipótesis general	28
2.2. Variables; definición conceptual y operacional	28
2.2.1. Identificación de las variables	28
2.2.2. Operacionalización de las variables	29

<b>CAPÍTULO III: METODOLOGÍA</b>	
3.1. Diseño metodológico	30
3.1.1. Tipo de investigación	30
3.1.2. Nivel de investigación	30
3.1.3. Diseño de investigación	31
3.2. Diseño muestral	
3.2.1. Población universo	31
3.2.1.1. Criterios de inclusión	31
3.2.1.2. Criterios de exclusión	31
3.2.2. Determinación del tamaño muestral	32
3.2.3. Selección de los miembros de la muestra	32
3.3. Técnicas e instrumento de recolección de datos, validez y confiabilidad	32
3.3.1. Técnicas	32
Procedimientos Laboratoriales de Recolección de datos	33
3.3.2. Instrumento	35
3.3.3. Validez cualitativa (Juicio de expertos)	
3.4. Técnicas de procesamiento de la información	35
3.4.1. Ordenar	35
3.4.2. Clasificar	35
3.4.3. Codificar	35
3.4.4. Tabulación de datos	35
3.5. Técnicas estadísticas utilizadas en el análisis de la información	35
3.5.1. Estadística descriptiva	35
3.5.2. Estadística inferencial	35
<b>CAPITULO IV: RESULTADOS</b>	
4.1. Análisis descriptivo, tablas de frecuencias, gráficos, dibujos	37
4.2. Comprobación de hipótesis, técnicas estadísticas empleadas	38
<b>CAPITULO V: DISCUSIÓN</b>	40
<b>CONCLUSIONES</b>	42
<b>RECOMENDACIONES</b>	43
<b>FUENTES DE INFORMACIÓN</b>	44

**INDICE DE TABLAS**

<b>Tabla N° 1:</b> Recuento de UFC in vitro de <i>Rosmarinus officinalis</i> comparado hipoclorito de sodio.....	37
<b>Tabla N° 2:</b> Prueba análisis de varianza para la hipótesis general.....	38
<b>Tabla N° 3:</b> Prueba de comparación de pares de Tukey.....	39

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura N° 1: Promedios de UFC/ml para cada tratamiento.....</b>	<b>39</b>
<b>Matriz de consistencia.....</b>	<b>47</b>
<b>Flujograma.....</b>	<b>51</b>
<b>Fotografías .....</b>	<b>55</b>

## RESUMEN

**Objetivo:** Analizar la eficacia antibacteriana in vitro de *Rosmarinus officinalis* comparado con Hipoclorito de Sodio en conos de gutapercha contaminados con *Enterococcus faecalis* en el laboratorio de la Universidad "Alas Peruanas" filial Ica, 2018. **Materiales y métodos:** Estudio tipo experimental, prospectivo, longitudinal, analítico, nivel explicativo. Se contaminaron conos de gutapercha con *Enterococcus faecalis* divididos en 6 grupos de acuerdo a tiempo de exposición, concentración y se compararon con un grupo control positivo hipoclorito al 5,0%. Se aplicó la técnica de mediciones biológicas. Se cuantificó en UFC/ml. Para el análisis de datos se utilizó la prueba paramétrica ANOVA complementado con una prueba post hoc Tukey, con nivel alfa de 5,0%. **Resultados:** El romero al 6% durante 1 minuto tuvo como promedio 2 UFC/ml similar al obtenido con el romero al 10% durante 1 minuto 2,33 UFC/ml., en cambio el promedio con el hipoclorito al 5% y durante 1 minuto fue de 0,833 UFC/ml. Estos valores no se diferencian significativa de los promedios obtenidos con romero al 6% durante 3 minutos 1,33 y los promedios obtenido con romero al 10% durante 3 minutos que fue 0,00 y también con el promedio del hipoclorito después de 3 minutos que fue de 0,50 UFC. **Conclusión:** Con un error  $p=0,364$  concluimos que no se encontró diferencias significativas en la eficacia antibacteriana in vitro de *Rosmarinus officinalis* al 6,0%; 10,0% e Hipoclorito de Sodio al 5,0% después de 1 a 3 minutos de exposición sobre los conos de gutapercha contaminados con *Enterococcus faecalis*.

**Palabras claves:** In vitro, Hipoclorito, *Rosmarinus officinalis*

## ABSTRACT

**Objective:** To analyze the in vitro antibacterial efficacy of Rosmarinus Officinalis compared to sodium hypochlorite in gutta-percha cones contaminated with enterococcus faecalis in the laboratory of the "Alas Peruanas" University, Ica branch, 2018. **Materials and methods:** Experimental, prospective, longitudinal, analytical, explanatory level study. Gutta-percha cones were contaminated with enterococcus faecalis divided into 6 groups according to exposure time, concentration and compared with a positive control group 5.0% hypochlorite. The biological measurement technique was applied. It was quantified in CFU/ml. For data analysis, the parametric test ANOVA was used, complemented with a post hoc Tukey test, with an alpha level of 5.0%. **Results:** The 6% rosemary for 1 minute had an average of 2 CFU/ml similar to that obtained with 10% rosemary for 1 minute, 2.33 CFU/ml, while the average with 5% hypochlorite for 1 minute was 0.833 CFU/ml. These values do not differ significantly from the averages obtained with rosemary at 6% for 3 minutes 1.33 and the averages obtained with rosemary at 10% for 3 minutes which was 0.00 and also with the average of hypochlorite after 3 minutes which was 0.50 CFU. **Conclusion:** With an error  $p=0.364$  we conclude that no significant differences were found in the in vitro antibacterial efficacy of Rosmarinus Officinalis at 6.0%; 10.0% and Sodium Hypochlorite at 5.0% after 1 to 3 minutes of exposure on gutta percha cones contaminated with enterococcus faecalis.

**Keywords:** In vitro, Hypochlorite, Rosmarinus Officinalis

## INTRODUCCIÓN

La rehabilitación endodóntica tiene como finalidad suprimir la presencia de microorganismos en los conductos radiculares para así prevenir la introducción de nuevos patógenos en dichos conductos.

Por ende, es de suma importancia que los instrumentales y los materiales introducidos al interior del conducto radicular no sea un vector que facilite una reinfección, o permita latencia del proceso infeccioso con las complicaciones que esta sin duda alguna generará. Por otra parte, el material de relleno como el cono de gutapercha debe estar exento de la presencia de microorganismos durante la génesis de todo tratamiento endodóntico.

La contaminación es probable cuando existe contacto persistente con las cajas endodónticas y/o materiales, también como consecuencia de la relación de la convivencia con el medio entorno, o en su defecto por impericia por parte del profesional de Salud o alguna circunstancia fortuita por parte del endodoncista.

Es más, cuando no se toma en cuenta los protocolos y se dispone de forma directa del paquete sellado, el material de relleno como el cono de gutapercha es posible su contaminación aún en el primer contacto con su entorno.

Diversas investigaciones sobre tratamiento endodóntico sugieren que el material de relleno como el cono de gutapercha deben seguir un ritual de descontaminación prolija antes de disponerse en el interior de los conductos radiculares.

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo identificar la eficacia bactericida del “Extracto Etanólico de Rosmarinus officinalis” en la desinfección rápida de los conos de Gutapercha, relacionados a la contaminación inmediata de estos una vez abiertos los empaques y siendo expuestos al medio ambiente y así mismo al momento de su manipulación, conllevando todo ello a fracasos en el tratamiento endodóntico por contaminación de los conos de gutapercha; por lo que podemos afirmar que la investigación se orientará a explicar la efectividad antibacteriana del “Extracto Etanólico de Rosmarinus officinalis” en concentraciones de 6% y 10% en comparación con un grupo control positivo de Hipoclorito de Sodio

al 5% en uno y tres minutos de exposición en el laboratorio de la Universidad Alas Peruanas filial Ica, 2018.

Por todo lo indicado a continuación procedemos a plantear el problema general:

¿Cuál es la eficacia antibacteriana in vitro de “Rosmarinus officinalis” comparado con “Hipoclorito de Sodio” en conos de gutapercha contaminados en el laboratorio de la Universidad “Alas Peruanas” filial Ica en el año 2018?

Lo mismos que a la sistematización del problema general se obtuvieron los siguientes **problemas específicos** que a continuación se detallan:

¿Cuál es la eficacia antibacteriana in vitro del “Extracto Etanólico de Rosmarinus officinalis” al 6% en un minuto de exposición en conos de gutapercha contaminados con “Enterococcus faecalis” en el laboratorio de la Universidad “Alas Peruanas” filial Ica en el año 2018?

¿Cuál es la eficacia antibacteriana in vitro del “Extracto Etanólico de Rosmarinus officinalis” al 6% en tres minutos de exposición en conos de gutapercha contaminados con “Enterococcus faecalis” en el laboratorio de la Universidad “Alas Peruanas” filial Ica en el año 2018?

¿Cuál es la eficacia antibacteriana in vitro del “Extracto Etanólico de Rosmarinus officinalis” al 10% en uno minuto de exposición en conos de gutapercha contaminados con “Enterococcus faecalis” en el laboratorio de la Universidad “Alas Peruanas” filial Ica en el año 2018?

¿Cuál es la eficacia antibacteriana in vitro del “Extracto Etanólico de Rosmarinus officinalis” al 10% en tres minutos de exposición en conos de gutapercha contaminados con “Enterococcus faecalis” en el laboratorio de la Universidad “Alas Peruanas” filial Ica en el año 2018?

¿Cuál es la eficacia antibacteriana in vitro del “Hipoclorito de Sodio” al 5% en un minuto de exposición en conos de gutapercha contaminados con “Enterococcus faecalis” en el laboratorio de la Universidad “Alas Peruanas” filial Ica en el año 2018?

¿Cuál es la eficacia antibacteriana in vitro del “Hipoclorito de Sodio” al 5% en tres minutos de exposición en conos de gutapercha contaminados con “Enterococcus faecalis” en el laboratorio de la Universidad “Alas Peruanas” filial Ica en el año 2018?

Al agregar el verbo cognoscitivo al problema general el **objetivo general** queda definido.

Analizar la eficacia antibacteriana in vitro de “Rosmarinus officinalis” comparado con “Hipoclorito de Sodio” en conos de gutapercha contaminados en el laboratorio de la Universidad “Alas Peruanas” filial Ica en el año 2018

### **Objetivos específicos**

“Evaluar la eficacia antibacteriana in vitro del Extracto Etanólico de Rosmarinus officinalis al 6% en un minuto de exposición en conos de gutapercha contaminados con Enterococcus faecalis en el laboratorio de la Universidad Alas Peruanas filial Ica en el año 2018”

“Evaluar la eficacia antibacteriana in vitro del Extracto Etanólico de Rosmarinus officinalis al 6% en tres minutos de exposición en conos de gutapercha contaminados con Enterococcus faecalis en el laboratorio de la Universidad Alas Peruanas filial Ica en el año 2018”

“Evaluar la eficacia antibacteriana in vitro del Extracto etanólico de Rosmarinus officinalis al 10% en un minuto de exposición en conos de gutapercha contaminados con Enterococcus faecalis en el laboratorio de la Universidad Alas Peruanas filial Ica en el año 2018”

“Evaluar la eficacia antibacteriana in vitro del Extracto Etanólico de Rosmarinus officinalis al 10% en tres minutos de exposición en conos de gutapercha contaminados con Enterococcus faecalis en el laboratorio de la Universidad Alas Peruanas filial Ica en el año 2018”

“Evaluar la eficacia antibacteriana in vitro del Hipoclorito de Sodio al 5% en un minuto de exposición en conos de gutapercha contaminados con Enterococcus faecalis en el laboratorio de la Universidad Alas Peruanas filial Ica en el año 2018”

“Evaluar la eficacia antibacteriana in vitro del Hipoclorito de Sodio al 5% en tres minutos de exposición en conos de gutapercha contaminados con Enterococcus faecalis en el laboratorio de la Universidad Alas Peruanas filial Ica en el año 2018”.

**Importancia de la investigación:**

El uso inadecuado del material de obturación durante la terapia endodóntica, que para el caso es el cono de gutapercha podrían facilitar y/o potenciar la contaminación; así como indican los estudios reportados por Pupo Marrugo y Cols (2015) que identificaron distintas especies por medio de la PCR las cuales determinaron UFC de “Enterococcus faecalis” en medición basal y final posterior al empleo de sustancias irrigadoras por lo que es imperativo diseñar nuevos estudios sobre los diferentes sustancias químicas para la descontaminación rápida y eficaz de los materiales de obturación. Dicho contexto justifica la presente investigación para conocer cuál de las sustancias que citamos es la más pertinente, de tal manera se promueva una desinfección rápida y eficaz que impida contaminación durante los procesos del tratamiento endodóntico; por lo que en adelante considero las razones (relevancia) por la que nuestros hallazgos son importantes:

**Relevancia teórica:** La ejecución del presente estudio permitió generar el conocimiento que discrimine la solución desinfectante con poca o ninguna capacidad antibacteriana; con lo que aportaríamos a la generación de nuevos conocimientos con respecto a la solución antibacteriana ideal para la desinfección de los conos de gutapercha; dado que en el grupo control positivo es lo que utilizamos en la actualidad.

**Relevancia práctica:** Los resultados que se obtengan serán útiles para la toma de decisiones por parte del clínico en el procedimiento de desinfectar los conos de gutapercha contaminada con “Enterococcus faecalis”.

**Relevancia social:** Dado que los estudios in vitro solo tienen validez interna; hacen que nuestros posibles hallazgos no puedan extrapolarse directamente a la clínica del paciente; sin embargo, sostenemos que los hallazgos favorecerán indirectamente la población usuaria de los tratamientos endodónticos como un procedimiento para mantener los dientes naturales.

### **Viabilidad de la investigación**

El estudio fue posible su ejecución por el hecho de disponer de los ambientes del laboratorio de la Universidad Alas Peruanas filial Ica; además que se cuenta con docentes altamente calificados para la ejecución de la presente investigación.

### **Limitaciones**

#### **Limitaciones metodológicas**

El estudio se encuentra en la fase laboratorial (in vitro) por lo que todo procedimiento de inferencia a la práctica clínica con el paciente es limitado.

Existe poca información y/o antecedentes referidos a la presente línea de investigación, por lo que se encontraron pocos estudios para la redacción de la contrastación de los resultados (discusión).

#### **Limitaciones operativas**

No existen limitaciones para realizar el presente estudio experimental.

## CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

### 1.1. Antecedentes de la investigación

#### 1.1.1. Internacionales

**(2015)** Se realizó una investigación donde se evaluó 21 dientes con el diagnóstico de “Periodontitis Apicales Crónicas No Supurativas” de pacientes en la clínica de la Universidad de Cartagena. Dichos pacientes fueron asignados de forma aleatoria en tres grupos, habiéndose usando: “Hipoclorito de Sodio al 5%”, “Clorhexidina” al 2%” e “Hipoclorito de Sodio 2,5%” con una irrigación final de “MTAD”. Se evaluó las “Unidades Formadoras de Colonias UFC” de “Enterococcus faecalis” antes y después de ser utilizadas las sustancias irrigadoras. Se realizó el test de “Kruskal Wallis” donde los resultados pudieron demostrar que todas las sustancias fueron totalmente efectivas en la eliminación de “E. faecalis” en pacientes con “Periodontitis apicales crónicas no supurativas”. Se concluyó que el “Hipoclorito de sodio al 5%, clorhexidina al 2%, hipoclorito de sodio y MTAD” pueden ser utilizadas en pacientes con “Periodontitis apical crónica no supurativa” por ser efectivas en la eliminación de “E. faecalis”.<sup>1</sup>

**(2017)** El objetivo de dicha investigación fue identificar la presencia de “Enterococcus Faecalis” en dientes deciduos con infecciones de los conductos radiculares y se relacionó con un posible fracaso del resultado de la “Pulpectomía” después de 36 meses. Se analizaron 25 muestras de conductos radiculares. La identificación de “E. Faecalis” se realizó con cultivos y pruebas moleculares. 36 meses más tarde, se evaluó el resultado de la “Pulpectomía”. Se encontró “Enterococcus faecalis” en un menor porcentaje y la caries dental fue la causa de infección primaria en todas ellas. El resultado final de la “Pulpectomía” se evaluó solo en los dientes que completaron todo el protocolo clínico y se siguieron hasta 36 meses después (n = 8). De estos, el 75% sí tuvo éxito y el 25% no lo tuvo. “E. faecalis” estuvo presente en el 50% de los casos exitosos y fallidos. La conclusión fue que, “Enterococcus faecalis” no tuvo relación con el fracaso del tratamiento endodóntico de los dientes primarios.<sup>2</sup>

### 1.1.2. Nacionales

(2017). La finalidad de este estudio fue “determinar el efecto antibacteriano in vitro de un colutorio elaborado con Extracto alcohólico de Rosmarinus Officinalis sobre Streptococcus Mutans y Enterococcus Faecalis”. El estudio se realizó en el laboratorio de microbiología de la “Universidad Señor de Sipán”. La muestra consistió en 100 uL de colutorio a base de “Extracto alcohólico de Rosmarinus Officinalis”, una suspensión bacteriana de “Streptococcus Mutans” y “Enterococcus Faecalis” a una concentración de  $1,5 \times 10^8$  UFC/ml. “Se tuvieron que aplicar dos metodologías muy importantes. El Método de Difusión en Placa con la cual se determinó la capacidad antibacteriana del colutorio y el Método de Microdilución en microplaca con el que se identificó la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB)”. Los resultados que se obtuvieron demuestran que el colutorio elaborado a base de “Extracto alcohólico de R. Officinalis” tiene mayor efecto antibacteriano “in vitro” frente a “Streptococcus Mutans” y “Enterococcus Faecalis” superando al grupo control positivo “Gluconato de Clorhexidina al 0,12%” incluso más de un 30% de inhibitoria. Así mismo se estableció la CMI y la CMB del colutorio elaborado a base de “Extracto alcohólico de Rosmarinus Officinalis” sobre “Streptococcus Mutans” el cual fue de 2mg/mL y 5mg/mL respectivamente. Para “Enterococcus Faecalis” la CMI y la CMB del colutorio elaborado a base de “Extracto alcohólico de Rosmarinus Officinalis” fue de 3mg/mL y 6mg/mL respectivamente.<sup>3</sup>

(2016)”. El objetivo de dicho estudio experimental fue determinar el efecto antibacteriano comparativo “in vitro” del “Aceite Esencial de Romero” contra las cepas de “Enterococcus faecalis”. Las pruebas de susceptibilidad fueron realizadas utilizando “El Método de Difusión en Disco”. Las cepas de “E. Faecalis” se sembraron en un medio de cultivo. Se incubaron discos de “Mueller Hinton” con cinco concentraciones distintas de “Aceite Esencial de Romero” al 5%, 25%, 50%, 75%, 100% a 37 °C en microanaerobiosis medidos en halos con Vernier después de 24 horas; todos los discos tenían halo de inhibición, y estos tamaños aumentaron

proporcionalmente a las concentraciones que fueron utilizadas. Se usaron también tubos de dilución para el método, se analizaron concentraciones del 5%, 25%, 50%, 75%, 100% de “Aceite Esencial de Romero”; A lo que se agregó el inóculo de “E. faecalis”. La incubación se realizó a 37°C por 24 horas en microanaerobiosis, por cada cultivo y se sembró 0,1 ml. en placas de agar “Mueller Hinton” para determinar las “Unidades Formadoras de Colonias” (UFC). Seguidamente después de 24 horas se realizó el recuento. De las cinco concentraciones de “Aceite Esencial de Romero” presentó el efecto inhibitorio del crecimiento de “E. faecalis”, pero solo se encontró la concentración inhibitoria mínima CMI en la concentración de 75% de “Aceite Esencial de Romero”. Se determinó que las concentraciones de “Aceite Esencial de Romero” tienen actividad inhibitoria “in vitro” sobre el crecimiento de “Enterococcus faecalis”.<sup>4</sup>

## **1.2. Bases teóricas**

### **Enterococcus faecalis:**

“E. faecalis es un coco Gram positivo que aparece solo, en pares o en cadenas; éstas células pueden aparecer como coco-bacilos cuando se realiza la tinción de Gram en muestras provenientes de placas de Agar o también pueden aparecer ovals o en cadenas cuando se realiza la Tinción de Gram en muestras provenientes de Caldo de Tioglicolato”. Éste es un microorganismo anaerobio facultativo y su crecimiento óptimo sucede a 35°C; pero, también se ha observado un crecimiento entre 10°C y 45°C. Todas las cepas crecen en caldos de Cloruro de Sodio al 6,5% y Esculina hidrolizada con presencia de sales biliares al 40% (medio de bilis-esculina). “Distintas investigaciones mencionan que casi todas las cepas de este microorganismo son homofermentativas, no producen gas, ni contienen enzimas citocrómicas y que el ácido láctico resulta el producto final de la fermentación de la glucosa”.

“E. faecalis es el microorganismo patógeno más asociado a las infecciones endodónticas persistentes, siendo aislado con mayor frecuencia de la flora microbiana mixta o de monocultivos”. Posiblemente este microorganismo en mención es el que mejor se adapta y tolera las condiciones ecológicas existentes

en los conductos radiculares que han sido obturados, gracias a algunas de sus características microbiológicas como sus factores de virulencia y su capacidad de crear biopelículas. “Por este motivo, es importante profundizar la investigación de *E. faecalis* en ciertas características microbiológicas y comprender cuál es la función con cada una de ellas en el desarrollo, crecimiento y supervivencia dentro del Sistema de Conductos Radiculares”.

“Una propiedad irrefutable de *E. faecalis* es su habilidad para crecer en medios con pH ácido y alcalino, donde este último por lo general reprime el desarrollo y supervivencia de muchos microorganismos. En relación a esto, McHugh et al estimaron el pH para impedir su crecimiento, y el experimento in vitro probó que se necesita un pH mayor > de 11,0 para eliminar este microorganismo”.

Se han elaborado numerosos estudios de investigaciones donde se ratifica la capacidad de “*E. faecalis*” de conformar biopelículas y así poder subsistir a ciertas medicaciones intraconducto y a diferentes protocolos de irrigación.

Es fundamental mencionar que “la supervivencia de *Enterococcus Faecalis* en los conductos radiculares se debe a que los irrigantes o medicamentos empleados durante la etapa de instrumentación no son idóneos para ingresar a todo el sistema de canales radiculares (SCR), o que la obturación radicular no es adecuado para lograr un sellado tridimensional completo, quedando espacios y zonas en donde estos microorganismos pueden esconderse y sobrevivir, como lo es el caso de los túbulos dentinarios (muy común), por lo que debemos encontrar mejores y efectivos medicamentos para los tratamientos de endodoncia, se debe poner mayor enfoque en la búsqueda de sistemas de obturación que sean cada vez más eficaz y perfectamente tridimensionales”.<sup>5</sup>

**Conos de Gutapercha:** La gutapercha es un componente vegetal tomado del coágulo del látex del tallo de un árbol de las familias de las Sapotáceas (*Mimusops balata* y *Mimusopshiberi*), que habita en el sureste de Asia, principalmente en Sumatra, Filipinas y el archipiélago indonesio, aunque también lo encontramos en otras partes del mundo, como en la selva amazónica de Brasil. La palabra gutapercha es de procedencia malaya, y tiene como siguiente significado: gatah,

goma y pertja, es el nombre que le corresponde al árbol en el idioma malayo (Prakash, Gopikrishna, &Kandaswamy, 2005).

### **Propiedades biológicas**

Muy buena compatibilidad con el tejido.

Se reabsorbe en el ápice y también en eventos de sobre obturación accidental.

Estimula y permite la aposición del tejido fibroso de reparación en el foramen apical.

Efecto microbiano excelente.

No desencadena una respuesta inmune en los tejidos apicales y periapicales. Por lo que es biocompatible.

No es mutagénico ni cancerígeno.

### **Propiedades físico químicas**

Facilita la inserción e introducción en el conducto radicular.

Cualidad de ser plástico en el momento de la introducción y se vuelve sólido posteriormente.

Propicia un buen tiempo de trabajo al operador.

Permite un sellado en el conducto radicular lo más hermético y tridimensionalmente posible.

No experimenta contracciones por lo general.

No es permeable.

Tiene muy buena fluidez.

Tiene buena viscosidad y adherencia, lo que hace que sea manipulable.

No se solubiliza en el interior del conducto radicular.

No se contraerse.

Tiene un pH próximo a neutro.

Es radiopaco

No mancha las estructuras dentales tratadas.

Es fácil de remover posteriormente.<sup>6</sup>

**Hipoclorito de Sodio** “Es un elemento efectivo y de amplio espectro contra diversos microorganismos patógenos, ya sean: gram positivos, gram negativos, hongos, esporas y virus. El Hipoclorito de sodio es la solución irrigadora más usos en la endodoncia hace muchos años debido a sus excelentes propiedades

bactericidas, antimicrobianas y fisicoquímicas. Su vasto mecanismo de acción genera alteraciones en la biosíntesis del metabolismo de la célula y también eliminación fosfolipídica, también contribuye a la formación de cloraminas que van a interferir en el metabolismo celular, presenta una actividad oxidativa con inhibición enzimática irreversible en el cuerpo celular de las bacterias, y por lo tanto la degradación de los lípidos y de ácidos grasos". (Estrela, C. et al, 2002) "Esta solución hasta la actualidad nos ha demostrado ser un competente y efectivo agente contra un amplio espectro de diferentes bacterias (tiene un potente efecto bactericida sobre anaerobios, aerobios y anaerobios facultativos y microaerófilos)". Son agentes químicos orgánicos que se componen de uno o varios átomos de un elemento halógeno (Por lo general cloro, aunque existen compuestos formados por Bromo e Yodo). Gracias a las primeras investigaciones realizadas por "Dakin y Dunham" en 1915 y 1917, las soluciones de cloro pasaron a ser de gran importancia en el campo de la medicina, en cirugía, y hasta el día de hoy en Odontología.

El cloro, es un potente germicida, desempeña su acción antibacteriana con la forma de "Ácido hipocloroso no disociado" Cuando se encuentra en solución neutra o acida, el "ácido hipocloroso" no se disocia y ejerce una notable acción bactericida.<sup>7</sup> Las soluciones de "Hipoclorito de sodio" son empleadas en bajas concentraciones, como "El líquido de Dakin (0,5% de cloro activo)" y la "Solución de Milton (1,0% de cloro activo)" en concentraciones medianas (2,5% de cloro activo) o también en concentraciones altas como la soda clorada (4-6% de cloro activo). "En la lista de las propiedades que convierten al Hipoclorito de sodio en la opción más idónea para la irrigación del sistema de conductos radiculares se destacan: excelente capacidad de limpieza, amplio poder antibacteriano efectivo, neutralizante de productos tóxicos, buen disolvente de tejido orgánico (pulpa), acción rápida y efectiva, desodorizante y blanqueante". "Las soluciones de Hipoclorito de sodio de baja y mediana concentración (0,5%, 1,0% y 2,5%) son las más adecuadas para el tratamiento de dientes vitales; su uso aplica cuidados en la técnica, ya que su propulsión desapercibida en el interior de los tejidos periapicales precisa reacciones más severas que las generadas por los detergentes aniónicos".

Aunque ya existen en el mercado múltiples y distintas soluciones irrigadoras a opinión de Leonardo, considera al “Hipoclorito de sodio” al 5,0% la sustancia de primera alternativa en el tratamiento de los dientes despulpados e infectados con afección periapical crónica, por sus óptimas propiedades que se mencionan a continuación:

**Posee baja tensión superficial:** Gracias a esta particularidad, la soda clorada doblemente concentrada ingresa en todas las concavidades del conducto radicular, y al mismo tiempo que crea las condiciones para mejorar la efectividad del medicamento suministrado tópicamente.

**Neutraliza los productos tóxicos:** Esta actividad suele ser muy importante porque nos proporciona neutralizar y retirar todo el contenido toxico del sistema de conductos radiculares en la sesión inicial del tratamiento, sin que se corra el riesgo de las tan fastidiosas agudizaciones de los procesos periapicales. Esta sustancia nos posibilita el ingreso de forma quirúrgica al medio ambiente antiséptico, en la misma sesión; existen otras sustancias como el tricresolformalina que requiere de 48 horas para desempeñar esta misma acción, y es aquí la gran ayuda que nos brinda el “Hipoclorito de sodio” en el tratamiento endodóntico.

**Bactericida:** Cuando entra en contacto con los residuos orgánicos pulpares, este, libera oxígeno y cloro, que son las mejores sustancias antisépticas más conocidas. Este desprendimiento vuelve al “Hipoclorito de sodio” un producto por lo general inestable, por lo cual debe de ser usado únicamente como solución irrigadora, durante la fase instrumentación de los conductos radiculares y en absoluto como apósito tópico dentro de los conductos.

**Favorece la instrumentación:** A través del humedecimiento de las paredes del conducto radicular, esto favorece la acción de los instrumentos.

**Su pH es alcalino:** Gracias a que su pH es alcalino, el “Hipoclorito de sodio” neutraliza la acidez del medio, volviéndolo por lo tanto inapropiado para el desarrollo de microorganismos.

**Tiene acción disolvente:** De acuerdo a lo dicho por “Grossmam y Meiman<sup>20</sup>” es el disolvente más eficaz para el tejido pulpar. Una pulpa puede ser disuelta por este agente sin ningún inconveniente, entre 20 minutos y 2 horas.

**“Deshidrata y solubiliza las sustancias proteicas:** Los residuos pulpares y alimenticios, así como los microorganismos del canal del conducto radicular, las fibrillas de Thomes, y las bacterias alojadas en los conductillos laterales, colaterales, accesorios, están compuestos en gran proporción por prótidos. Estas sustancias proteicas vienen a ser deshidratadas y solubilizadas por la acción del Hipoclorito de sodio, transformándola en restos de fácil eliminación del conducto”.

**Su acción es rápida:** La interacción soda clorada/agua oxigenada o soda clorada/restos orgánicos se hacen rápidamente, aunque es enérgicamente efervescente, forzando a los residuos y las bacterias fuera del conducto radicular.

**Tiene doble acción detergente:** Los alcálisis ejercen sobre los ácidos grasos, saponificándolos, es decir, convirtiéndolos en jabones solubles de fácil eliminación. Los alcálisis, como los jabones, reducen toda tensión superficial de los líquidos, de ahí viene el doble poder humectante y detergente de la “Soda clorada”.

**No es irritante:** El “Hipoclorito de sodio” al 4 y 6% no son irritantes bajo un estado de uso clínico, es decir, cuando se usa en el tratamiento del conducto radicular de los dientes despulpados, conocido como necropulpectomia).

**Otras propiedades del Hipoclorito de Sodio:** El “Cloro” es una de las sustancias germicidas más potentes, como el “Hipoclorito de sodio”, tanto es así que tiene muy buena tolerancia por sus excelentes propiedades:

Tiene baja tensión superficial ingresando en todas las concavidades.

Neutraliza todas las sustancias tóxicas disminuyendo el material contaminado del conducto radicular.

Es antimicrobiano, ya que entra en contacto con los restos de desecho orgánicos, liberando oxígeno y cloro los cuales son buenos antisépticos.

Tiene pH alcalino el cual neutraliza la acidez del medio dentinopulpar.

Disuelve el tejido pulpar de forma eficaz.

Deshidrata y solubiliza las sustancias proteicas.

Acción rápida por la interacción del agente irrigante con los residuos orgánicos.

Tiene una doble acción detergente ya que ejerce poder humectante y detergente al mismo tiempo.

Presenta arrastre mecánico en donde la solución ingresa y reacciona con los restos necróticos y se disuelve el cloro y el oxígeno, los cuales por ser volátiles buscan la luz del conducto radicular y acontece el arrastre mecánico.

**Mecanismo de acción:** Según “Estrela y Cols.” la acción del “Hipoclorito de sodio” opera a través de tres mecanismos:

**Saponificación,** que actúa como un solvente orgánico y va degradando los ácidos grasos en sales ácidas grasas (es decir, jabón) y glicerol (alcohol), reduce la tensión superficial de la solución restante.

**Neutralización,** en el cual el “Hipoclorito de sodio” neutraliza aminoácidos formando agua y sal.

**Cloraminación.** Es la reacción del “Cloro” y el grupo amino que componen cloraminas que impide el metabolismo celular. El cloro presenta una actividad antimicrobiana inhibiendo las enzimas esenciales de las bacterias a través de la oxidación.

**Acción bactericida y de disolución:** Esto ocurre gracias a la concentración, a la temperatura y al pH de la solución.

**Concentraciones del Hipoclorito de sodio:** Se ha investigado la eficacia de distintas concentraciones de “Hipoclorito de sodio” con respecto a su acción solvente y antimicrobiana. Existen controversias entre los autores sobre la mejor concentración del “Hipoclorito de sodio”. A mayor dilución, hay un menor poder desinfectante y por lo tanto una menor irritación. Los estudios realizados por “Dakin y Dakin&Dunham” respectivamente en 1915, 1916 y 1917; mencionan que los compuestos de cloro pasaron a ser utilizados en Medicina, en Cirugía y en Odontología, popularizándose por su gran acción bactericida y antimicrobiana muy efectiva y bajo costo. En 1918, “Carrel& De Helly”, citados por “Sollman”, explicaron la técnica de irrigación de los campos operatorios con soluciones cloradas. Su empleo en tratamientos endodónticos fue recomendado por “Blass”, empleado por “Walker”, en 1936 y extensamente divulgado por “Grossman”.

El dilema de la concentración es un tema de debate; la eficacia antibacteriana de las soluciones del “Hipoclorito de sodio” es una actividad de su concentración, al igual que su capacidad de disolver el tejido y por otro lado, su potencial cáustico.

Se han publicado los incidentes serios cuando las soluciones concentradas del “Hipoclorito de sodio” fueron forzadas inadvertidamente en tejidos periodontales.

“Diversos estudios han revelado que las capacidades antibacterianas y disolventes de una solución de Hipoclorito de sodio al 5,25% se reduce cuando ésta es diluida, al mismo tiempo disminuyen sus efectos tóxicos; así una solución al 5% es altamente bactericida, también tóxica y una solución al 0,5%, aunque menos irritante, sus efectos antimicrobianos están reducidos”.<sup>7</sup>

**Rosmarinus officinalis (romero) Historia:** “Rosmarinus officinalis fue utilizado desde la antigüedad como una planta medicinal y también para la obtención de Aceites esenciales. Se cuenta que los faraones en Egipto colocaban sobre sus tumbas varias ramas de Romero para de esa forma perfumar su viaje al país de los muertos”.

“Su nombre genérico, Rosmarinus deriva de la unión de dos palabras griegas, rhops, arbusto y myrinos, aromático; que coinciden perfectamente con las características de la planta; y su nombre específico, officinalis expresa su empleo como planta medicinal”.

### **Composición química**

Podemos señalar dos familias químicas muy importantes, como son los “Terpenos y los compuestos Fenólicos”. De estas dos familias existe una diversa cantidad de componentes, entre los “Terpenos” encontramos “Monoterpenos”, “Sesquiterpenos”, “Diterpenos” y “Triterpenos”, pero sus características físico-químicas, son esenciales a la hora de extraerlos de la hoja de romero. Por ejemplo en la extracción del “Alcohol de Romero” destacan los “Diterpenos”, “Triterpenos” y los “Compuestos fenólicos”, es decir “Los Flavonoides”, mientras que del “Aceite esencial” de la hoja de “Romero” podemos destacar la existencia de “Monoterpenos” y “Sesquiterpenos”.

**Terpenos** Llamados “Terpenoides o Isoprenoides”, se pueden encontrar en todas las partes de la planta superior y en algas, musgos, insectos, líquenes y microorganismos. Estas estructuras formadas a partir de una unidad de 5 carbonos.

**Compuestos fenoólicos:** Este tipo de compuesto son los más abundantes en el “Romero”. Estos son los responsables del sabor y olor tan fuerte que caracteriza a la planta. Los flavonoides son beneficiosos ya que tienen un poder antioxidante muy fuerte.

Los componentes puros de mayor importancia presentes en el “Romero” son el “Ácido Carnósico” y el “Ácido Rosmarínico” presentes en mayor cantidad y sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antimicrobianas entre otras. Estas propiedades, demostradas en diferentes estudios, han generado que sean los compuestos puros y de mayor uso para las diferentes investigaciones sobre las propiedades del “Romero” sobre la salud.

**Ácido Carnósico** Posee propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, se utiliza cada vez más en las industrias de la alimentación, nutrición y cosmética. Se localiza mayormente en las partes aéreas como las hojas. Sus características químicas se asemejan más con los “Terpenoides”, por lo que se agrupa como un “Diterpeno fenólico”.

**Ácido Rosmarínico** Es un compuesto natural hidroxilado que podemos encontrar en el “Romero” y otras especies de plantas. Presenta diferentes actividades biológicas que son antiinflamatorias, antioxidantes, antitumorales, antiangiogénico y las funciones antimicrobianas.

**Extracto etanólico de Romero:** Aquí podemos encontrar también “Diterpenos, Triterpenos y compuestos Fenólicos”, especialmente “Flavonoides”. En el caso de los “Diterpenos”, se han descrito compuestos como el “Ácido carnósico y el Carnosol” que presentan propiedades antioxidantes y otros “Compuesto Fenólicos” que no pertenecen al grupo de los “Flavonoides” y que se destacan por sus propiedades son el “Ácido caféico” y su derivado el Ácido Rosmarínico”

### **Propiedades del romero**

Disminuye la formación de trombos.

Excelente antimicrobiano.

Mayor supervivencia celular.

Protege el tejido endotelial y su función del daño diabético.

Ayuda a revertir el daño hepático.

Reduce la acumulación de grasa en el hígado y mejora de los trastornos metabólicos.

Reducción de moco e inflamación pulmonar y en los bronquios.

Mejora la memoria y aprendizaje, previniendo la degeneración neuronal

Mejora el sistema antioxidante.

Disminuye la acumulación de lípidos en los adipocitos

**Actividad antibacteriana.**

“Extractos hidroalcohólicos también muestran actividad en bacterias de la cavidad oral y en enterobacterias. El extracto de hoja de *R. officinalis* repercute a la membrana celular de las bacterias, por ende, la actividad citotóxica impacta directamente a la fase mitótica de las bacterias Gram positivas y Gram negativas”.

“Por destacar, *Escherichiacoli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.* y *S. aureus*, estos microorganismos son susceptibles a los componentes del Extracto de Romero, en cuyo extracto prevalecen el ácido caféico, ácido rosmarínico, carnosol, ácido carnosólico y flavonoides”.

**Actividad antifúngica:** “El extracto glicólico de *R. officinalis* demostró efectos fungioestáticos y fungicidas sobre cepas de *C. albicans*, *C. glabrata* y *C. tropicalis* aislada de la cavidad oral de pacientes que utilizaron antibióticos prolongados”.

**Efectos antioxidantes:** Se ha analizado en estudios “in vitro”, que la actividad antioxidante se le ha sido asignado al “Rosmanol”, “Carnosol” y al “Ácido Carnósilico”. El “Ácido Carnósico” es un excelente inhibidor de radicales peróxilo, es decir es un antioxidante primario, y no solo inactiva la formación de hidroperóxidos porque también previene su desintegración.<sup>8</sup>

### 1.3. Definición de términos básicos

**Conos de Gutapercha:** Son materiales que se utilizan en la práctica endodóntica como obturadores de los conductos radiculares, ya sea de forma caliente o fría.

**Desinfección:** Es un proceso que elimina la mayoría o todos los microorganismos sobre los objetos inanimados.

**Endodoncia:** Es una especialidad que pertenece a la odontología, que estudia la estructura, fisiología y morfología de los conductos radiculares, y de la misma forma las patologías del complejo dentinopulpar y la zona del periápice.

**Control positivo:** Es un control experimental que siempre da como resultado una respuesta positiva al final de todo experimento. Por ende los controles positivos se utilizan para evaluar la validez de un estudio de investigación.

**Hipoclorito de sodio:** Es un compuesto químico resultante de la mezcla de cloro, hidróxido de sodio y agua.

**Rosmarinus officinalis:** Es una planta de característica y uso medicinal, de la cual se pueden obtener distintas formas como “Extracto Etanólico”, “Aceite esencial” o “Extracto Hidroalcohólico” para sus múltiples usos terapéuticos.

## **CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN**

### **2.1. Formulación de la hipótesis principal y derivadas**

#### **2.1.1. Hipótesis general**

**H<sub>0</sub>:** “No existe diferencias significativas en la eficacia antibacteriana in vitro de Rosmarinus Officinalis comparado con Hipoclorito de Sodio en conos de gutapercha contaminados en el laboratorio de la Universidad Alas Peruanas filial Ica en el año 2018”

**H<sub>1</sub>:** “Existen diferencias significativas en la eficacia antibacteriana in vitro de Rosmarinus Officinalis comparado con Hipoclorito de Sodio en conos de gutapercha contaminados en el laboratorio de la Universidad Alas Peruanas filial Ica en el año 2018”

### **2.2. Variables; definición conceptual y operacional**

#### **2.2.1. Identificación de las variables**

**Variable independiente:** Extracto etanólico de Rosmarinus Officinalis

**Variable dependiente:** Conos de gutapercha contaminados con Enterococcus faecalis

**Variable de control:** Hipoclorito de sodio al 5%

#### **2.2.2 Operacionalización de variables**

### OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

**TÍTULO:** “EFICACIA ANTIBACTERIANA IN VITRO DE EXTRACTO ETANOLICO DE ROSMARINUS OFFICINALIS EN UNO Y TRES MINUTOS DE EXPOSICIÓN EN CONOS DE GUTAPERCHA CONTAMINADOS CON ENTEROCOCCUS FAECALIS”

<b>VARIABLE DEPENDIENTE</b>	<b>DIMENSIONES</b>	<b>INDICADOR</b>	<b>VALOR FINAL</b>	<b>ESCALA</b>	<b>TÉCNICA E INSTRUMENTO</b>
Eficacia antibacteriana	Eficacia antibacteriana	Conteo de <i>enterococcus faecalis</i> a exposición de 1 y 3 minutos	UFC/ml	Razón	Mediciones biológicas Cultivos
<b>VARIABLE INDEPENDIENTE</b>	<b>DIMENSIONES</b>	<b>INDICADOR</b>	<b>VALOR FINAL</b>	<b>ESCALA</b>	<b>INSTRUMENTO</b>
Extracto etanolico Rosmarinus Officinalis	Rosmarinus Officinalis 6%	Extracto etanólico al 6%	Si No	Nominal	Ficha de recolección de datos
	Rosmarinus Officinalis 10%	Extracto etanólico al 10%	Si No	Nominal	Ficha de recolección de datos
Hipoclorito de sodio	Hipoclorito al 5%	Concentración al 5%	Si No	Nominal	Ficha de recolección de datos

## CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

### 3.1. Diseño metodológico

#### 3.1.1. Tipo de Investigación

Para fines del presente estudio se utilizó la clasificación operativa del Dr. Altman en concordancia con la Dra. Canales; los mismos que tienen el carácter de ser exhaustivo y excluyente, cuyos parámetros de exigencia fueron tomados en cuenta según se detalla en las siguientes líneas:<sup>9</sup>

##### **Según la manipulación de la variable**

Experimental: Porque la investigadora controló las condiciones de exposición de “Rosmarinus officinalis” al 6%; 10% “Hipoclorito de Sodio” 5% para verificar que efectos tienen en la desinfección de los conos de gutapercha contaminados in vitro con “Enterococcus faecalis”.

##### **Según la fuente de toma de datos**

Prospectiva: La fuente de medición fue directa.

##### **Según el número de mediciones**

Longitudinal: Porque se cuantificó y definió el recuento basal de “Enterococcus faecalis” en  $1,5 \times 10^5$  UFC/ml a partir de la cual se aplicó “Rosmarinus officinalis” al 6%; 10% e “Hipoclorito de Sodio” 5% con un tiempo de exposición de 1 y 3 minutos de tal manera que se verifique en qué momento o grupo de comparación el efecto de la desinfección de los conos de gutapercha es significativo.

##### **Según el número de variables o analizar**

Analítica: Porque se realizó análisis de más de una variable.

**3.1.2. Nivel de Investigación:** Se definió el presente estudio en el nivel explicativo en atención a la propuesta publicado por el Dr. Carrasco<sup>10</sup> quien indica que los estudios explicativos o causales indagan sobre la relación recíproca y concatenada de todos los hechos de la realidad, buscando dar una explicación objetiva, real y científica a aquello que se desconoce y que necesariamente supone la presencia de dos o más variables que es la característica que motiva a la presente investigación.

**3.1.3. Diseño:** Diseño experimental en la subclasificación de “diseño de tres grupos aleatorizados” incluido el grupo control positivo (Hipoclorito de Sodio); y cuyo diagrama que le corresponde es como a continuación se detalla:

		<b>GE<sub>1</sub></b>	X	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>
1,5 x 10 <sup>5</sup> UFC/ml	<b>A</b>	<b>GE<sub>2</sub></b>	X	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>
Enterococcus faecalis		<b>GC</b>	X	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>

**A** = Aleatorización de conos de gutapercha N° 35 marca ENDOMEDIC

**GE<sub>1</sub>** = Grupo experimental (Rosmarinus Officinalis al 6%)

**GE<sub>2</sub>** = Grupo experimental (Rosmarinus Officinalis al 10%)

**GC** = Grupo control positivo (NaOCl 5%)

**X** = Manipulación de la variable

**O<sub>1</sub>** = Medición a 1 minuto de exposición

**O<sub>2</sub>** = Medición a 3 minutos de exposición

## 3.2. Diseño muestral

### 3.2.1. Población universal

La población de estudio fue una caja nueva de 100 conos de gutapercha N° 35 marca ENDOMEDIC rotulados con sello de fábrica intacto.

#### 3.2.1.1. Criterios de inclusión:

Los conos de gutapercha con sello de fábrica intacto.

Conos de gutapercha N° 35.

Los conos de gutapercha marcan ENDOMEDIC.

Conos de gutapercha contaminados in vitro con 1,5 x 10<sup>5</sup> UFC/ml “Enterococcus faecalis”

Placas petri y tubo de ensayo que contengan cepas bacterianas “Enterococcus faecalis” con aplicación de “Rosmarinus officinalis” al 6%; 10% a 37°C.

#### 3.2.1.2. Criterios de exclusión:

Conos de gutapercha cuyo prescito de seguridad de fábrica haya sido vulnerado.

Conos de gutapercha de diferente del número 35

Los conos de gutapercha de otras marcas que no sean ENDOMEDIC.

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

**3.2.2. Determinación del tamaño muestral:** En atención a Alejandro Castro que define el muestreo no probabilístico como el método que no necesita de fórmulas ni operaciones matemáticas y a la condición de los antecedentes y la viabilidad económica realizó un muestreo no probabilístico para estudios analíticos; siendo ésta definida para el presente estudio el coeficiente 42/100 conos de gutapercha para pasar por el proceso de contaminación divididos en 6 grupos de acuerdo al tiempo de exposición y concentración de “Rosmarinus officinalis” según se detalla a continuación:.

**3.2.3. Selección de los miembros de la muestra:**

	1 minuto			3 minutos		
	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	GC	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	GC
	6%	10%	5%	6%	10%	5%
<b>E. Faecalis</b> <b>1,5 x 10<sup>5</sup></b> <b>UFC/ml</b>	1	7	13	19	25	31
	2	8	14	20	26	32
	3	9	15	21	27	33
	4	10	16	22	28	34
	5	11	17	23	29	35
	6	12	18	24	30	36

**3.3. Técnicas e instrumento de recolección de datos, validez y confiabilidad**

**3.3.1. Técnicas: Mediciones biológicas**

La cepa bacteriana de “Enterococcus faecalis” fue obtenida del cepario del banco bacteriológico del laboratorio de la facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad “Alas Peruanas” filial Ica y el proceso de contaminación, desinfección y cultivo, se realizó bajo las estrictas condiciones del docente del área de microbiología. La incubación de todas las placas sembradas se realizara a 37°C por 4 días en semiaerobiosis, en el caso de las placas con agar Tioglicolato se le incubará en una atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub>

## PROCEDIMIENTO LABORATORIALES DE RECOLECCIÓN DE DATOS

### **Adquisición de las plantas de *Rosmarinus officinalis* (Romero)**

Las plantas de "*Rosmarinus officinalis*" (Romero), se adquirieron en la zona de venta de plantas medicinales de la ciudad de Ica. Se escogieron las plantas de mejor calidad para luego ser trasladadas al laboratorio de Productos naturales de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional "San Luis Gonzaga".

### **Obtención del extracto etanólico**

La obtención del "Extracto Etanólico de *Rosmarinus officinalis*" estuvo a cargo de la Dra. Patricia Castillo de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la "Universidad Nacional San Luis Gonzaga", para lo cual, se seleccionaron las hojas de forma independiente desojándolas una por una para eliminar alguna especie extraña. Se pesó 1Kg de hojas de Romero, a las cuales se las lavó con agua destilada y alcohol al 96° para su desinfección, para posteriormente ser secadas bajo la sombra por un tiempo determinado no mayor de 24 horas. Luego fueron colocadas en papel Kraft y se llevaron a una estufa a 50°C durante 4 horas.

"Una vez secas las hojas, se proceden a la molienda del material vegetal con el apoyo de un molino manual casero y un mortero, hasta obtener su total pulverización. A partir del polvo obtenido, se pesaron 100 gr y fueron colocadas dentro de un frasco de vidrio de color ámbar con capacidad de 1000 mL, luego se le añadió un solvente; etanol al 70% y se procede a la obtención del Extracto alcohólico mediante el Método de Maceración, agitándolo de forma constante durante 14 días y conservándolo en un lugar fresco, seco y ocultándolo de la luz solar". (Alvarado, 2017; Cano, 2017; Montero, 2017).<sup>11</sup>

El producto obtenido fue filtrado por lo menos 3 veces, primero con papel filtro Whatmann N° 41, el segundo filtrado fue realizado con papel filtro Whatmann N°2, y por último; el tercer filtrado se hizo con papel Whatmann N° 1. De esta forma se obtuvo un "Extracto Etanólico de Romero" purificado libre de gérmenes. Seguidamente el producto filtrado se colocó en un recipiente de vidrio de boca ancha y se llevó a la estufa a 37°C durante 7 días hasta que el alcohol se evapore completamente, quedando solo el extracto puro, finalmente se obtuvo una masa seca de "Extracto Etanólico de *Rosmarinus officinalis*". (Purca, 2013; Sosa, 2015).

### **Preparación de las concentraciones del extracto alcohólico**

A partir de la masa del Extracto seco de “*Rosmarinus officinalis*” seguidamente se prepararon concentraciones de 6% y 10%. Cada concentración fue colocada en frascos color ámbar estériles y tapado herméticamente, siendo refrigerado hasta el momento de su utilización. (Alvarado, 2017; Purca 2013).<sup>11</sup>

### **Obtención de la cepa de *Enterococcus faecalis*.**

El “*Enterococcus faecalis*” (ATCC 51299) se obtuvo del cepario del Laboratorio de Microbiología de la “Universidad Alas Peruanas Filial Ica”. La cepa fue reactivada inoculándola en caldo tioglicolato e incubando en presencia de 5% de CO<sub>2</sub> a una temperatura de 37°C por 24 horas, estableciendo su viabilidad por la turbidez del caldo (Alvarado 2017; Cueva, 2017)<sup>11</sup>

### **Preparación y estandarización del inóculo**

El inóculo a utilizar estuvo constituido por una suspensión bacteriana que se sembró en caldo tioglicolato y se procedió a estandarizar mediante la técnica turbidimétrica por comparación visual hasta alcanzar la concentración bacteriana aproximada de  $1,5 \times 10^8$  UF/mL, equivalente al tubo N° 0,5 del Nefelómetro de Mc Farland. El inóculo preparado fue utilizado inmediatamente después de su preparación. (Cano, 2017; Cueva, 2017; Salirrosas, 2016).

### **Demostración de la eficacia antibacteriana del extracto**

Siete conos de gutapercha N° 35 se introdujeron en un tubo de ensayo que contenía el inóculo de “*Enterococcus faecalis*” durante 30 segundos, luego se colocaron en un tubo que contenía el “Extracto Etanólico de *Rosmarinus officinalis*” al 6% durante un minuto. Cada cono fue retirándose y colocándose sobre gasa estéril para eliminar el exceso de extracto etanólico. Posteriormente cada cono se introdujo en un tubo que contenía 1 mL de Solución salina estéril. De esta solución previa agitación se colocó 100 uL sobre el medio agar tioglicolato (presente en placas) y se procedió hacer la siembra por diseminación con espátula de Drigalsky en todas direcciones. Las placas con el cultivo respectivo se procedieron a incubar a 37°C en presencia de 5% de CO<sub>2</sub> durante 72 horas. Finalmente se realizó la lectura del número de colonias de “*E. faecalis*” desarrolladas por ml.

Este mismo procedimiento se aplicó para siete conos frente a extracto etanólico de “Rosmarinus officinalis” al 10% y para siete conos frente al hipoclorito de sodio al 5% durante 1 minutos de exposición.

Similarmente, este procedimiento fue aplicado para demostrar la eficacia frente al inóculo de “Enterococcus faecalis” del “Extracto Etanólico de Rosmarinus officinalis” al 6% y al 10%, comparado con el “Hipoclorito de sodio” al 5% durante 3 minutos de exposición. (Ver Flujograma en Anexos)

### **3.3.2. Instrumento**

El instrumento que se utilizó es de tipo mecánico con fecha de calibración vigente a la toma de datos y todas las mediciones se realizaron con la pericia de un microbiólogo que labora en el laboratorio de la Universidad “Alas Peruanas” filial Ica.

### **3.3.3. Validez cualitativa (Juicio de expertos)**

La validez del contenido se obtuvo con la valoración crítica de tres juicios de expertos especialistas en la línea de investigación de cuyos detalles adjuntos en el anexo N° 4.

**3.4. Técnicas de procesamiento de la información:** El recuento del “Enterococcus faecalis” obtenido de la exposición al “Extracto Etanólico de Rosmarinus officinalis” y el Hipoclorito de Sodio se procedió a ordenar, clasificar, codificar y tabular los datos en una matriz de datos.

**3.5. Técnicas estadísticas utilizadas en el análisis de la información:** El proceso de contrastación empírica de la hipótesis se realizó siguiendo el ritual de significancia estadística propuesto por Ronald Fisher<sup>13</sup>; las mismas que se detallan a continuación:

#### **Formulación de la hipótesis estadística**

**Nivel de significancia:**  $0.05 = 5\%$

**Elección de la prueba estadística:** Si la variable numérica de “Enterococcus faecalis” (UFC/ml) presenta distribución normal se recurrirá a una prueba para comparación múltiple como el análisis de varianza (Prueba “F” de Fisher); en caso contrario se recurrirá a la “Prueba No Paramétrica” Kruskal Wallis.

### **Toma de decisión**

“Si la prueba calculada es mayor al valor crítico se procederá a rechazar la Hipótesis nula y por lo tanto a validar la Hipótesis alterna ( $H_1$ ); en caso de que la prueba calculada sea menor al valor crítico no podremos rechazar la Hipótesis nula por lo que procederemos a validarla” ( $H_0$ ).

### **Interpretación del p-valor**

“Si el p-valor es menor al nivel de significancia ( $\alpha = 0.05$ ) se rechazará la Hipótesis nula y se procederá a la validación de la Hipótesis alterna ( $H_1$ ); sin embargo, si el p-valor es mayor al nivel de significancia no se podrá rechazar la Hipótesis nula por lo que se procederá a su validación” ( $H_0$ ).

## CAPITULO IV: RESULTADOS

### 4.1. Análisis descriptivo, tablas de frecuencia, gráficos, dibujos

**Tabla N 1.** Recuento de UFC in vitro de *Rosmarinus officinalis* comparado con Hipoclorito de Sodio

n	Tratamiento					
	Romero 6% (1 minuto)	Romero 10% (1 minuto)	Hipoclorito 5% (1 minuto)	Romero 6% (3 minutos)	Romero 10% (3 minutos)	Hipoclorito 5% (3 minutos)
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	1	0	0
4	3	2	0	1	0	1
5	4	3	0	1	0	1
6	5	9	5	5	0	1
X	2.000	2.333	0.833	1.333	0.000	0.500

La tabla muestra las “unidades formadoras de colonias” UFC producto de la contaminación en conos de gutapercha para determinar la eficacia “in vitro” de “*Rosmarinus officinalis*” al 6% y 10% comparados con el Hipoclorito de sodio después de 1 y 3 minutos.

Se tomaron 6 muestras para cada uno de los seis tratamientos durante 72 horas y ver el crecimiento bacteriano, como se observa los promedios para cada tratamiento servirá para determinar si existe o no diferencia significativa entre ellos.

El romero al 6% durante 1 minuto tiene como promedio 2 UFC., valor muy parecido al promedio obtenido con el Romero al 10% durante 1 minuto que fue de 2,33 UFC., en cambio el promedio con el Hipoclorito al 5% y durante 1 minuto fue de 0,833. Estos valores no se diferencian significativamente de los promedios obtenidos con Romero al 6% durante 3 minutos 1,33 y los promedios obtenidos con Romero al 10% durante 3 minutos que fue 0,00 y también con el promedio del Hipoclorito después de 3 minutos que fue de 0,50 UFC

## 4.2. Comprobación de hipótesis, técnicas estadísticas empleadas

### HIPÓTESIS GENERAL

#### Hipótesis estadística:

**H<sub>0</sub>:** “No Existen diferencias significativas en la eficacia antibacteriana in vitro de Rosmarinus officinalis comparado con Hipoclorito de Sodio en conos de gutapercha contaminados en el laboratorio de la Universidad Alas Peruanas filial Ica en el año 2018”

**H<sub>1</sub>:** “Existen diferencias significativas en la eficacia antibacteriana in vitro de Rosmarinus officinalis comparado con Hipoclorito de Sodio en conos de gutapercha contaminados en el laboratorio de la Universidad Alas Peruanas filial Ica en el año 2018”

**Nivel de significancia:**  $\alpha = 0.05$

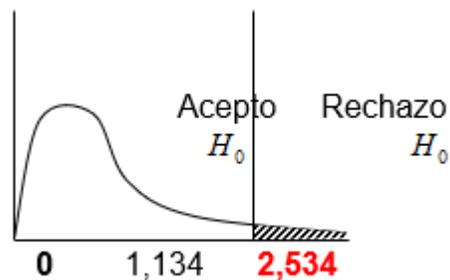
**Estadística de prueba:** Prueba análisis de varianza (Prueba “F” de Fisher)

**Tabla N° 2:** Prueba análisis de varianza para la hipótesis general

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

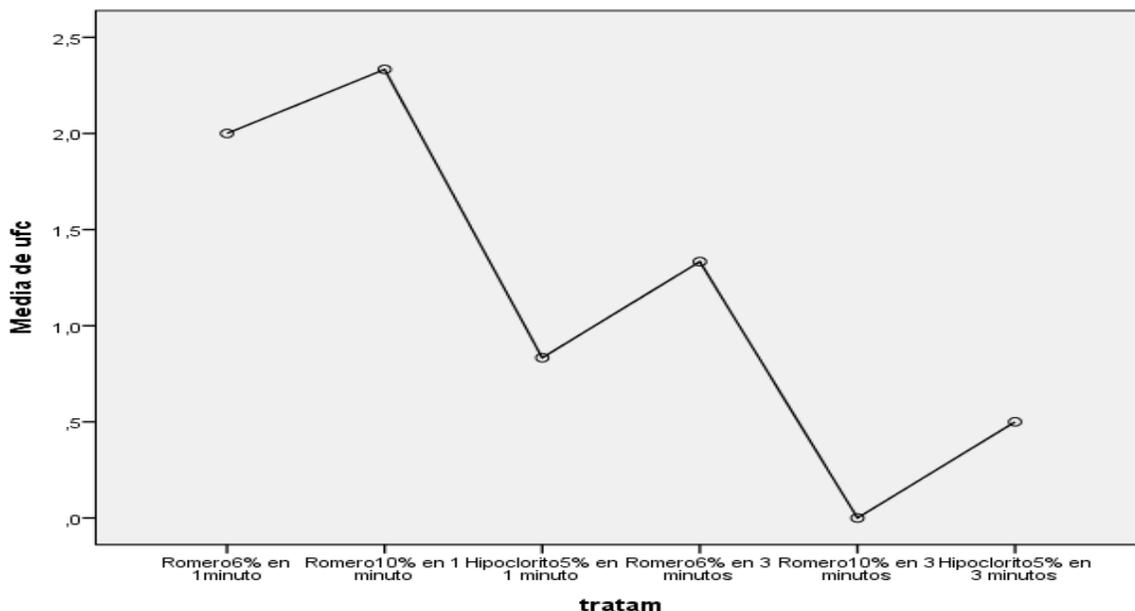
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Tratamientos	24,00	5	4,80	1,134	0.364	2,534
Residuos	127,00	30	4,23			
Total	151,00	35				

**Regla de decisión:** Como el estadístico F calculado es 1,134 valor menor al estadístico estándar para F al nivel de significación del 5% que es 2,534 cae en la zona de aceptar la hipótesis nula H<sub>0</sub>.



**Toma de decisión:**

A un nivel de significación del 5% los datos muestran evidencia de que no existen diferencias significativas en la eficacia antibacteriana in vitro de Rosmarinus officinalis comparado con Hipoclorito de Sodio en conos de gutapercha contaminados.



**Figura N° 1: Promedios de UFC/ml para cada tratamiento**

**Tabla N° 3: Prueba de comparación de pares de Tukey**

**UFC**

HSD de Tukey<sup>a</sup>

tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
Romero10% en 3 minutos	6	0,00
Hipoclorito5% en 3 minutos	6	0,50
Hipoclorito5% en 1 minuto	6	0,83
Romero6% en 3 minutos	6	1,33
Romero6% en 1 minuto	6	2,00
Romero10% en 1 minuto	6	2,33
Sig.		0,385

Como todos los promedios se encuentran en un solo subconjunto se concluye que no hay diferencia significativa entre ellos.

## CAPITULO V: DISCUSIÓN

En cuanto al recuento de UFC/ml in vitro de “Rosmarinus officinalis” comparado con hipoclorito de sodio sobre cono de gutapercha contaminado con “Enterococcus faecalis” (**tabla N° 1**), se observó que el “Rosmarinus officinalis” al 6% durante 1 minuto tiene como promedio 2 UFC., valor muy parecido al promedio obtenido con el “Rosmarinus officinalis” al 10% durante 1 minuto que fue de 2,33 UFC., en cambio el promedio con el “Hipoclorito de sodio” al 5% y durante 1 minuto fue de 0,833. Estos valores no se diferencian significativa de los promedios obtenidos con “Rosmarinus officinalis” al 6% durante 3 minutos 1,33 y los promedios obtenido con romero al 10% durante 3 minutos que fue 0,00 y también con el promedio del hipoclorito después de 3 minutos que fue de 0,50 UFC. Nuestros resultados fueron coincidentes con los hallazgos reportados por Loja-Montoya M. en su estudio titulado: “Efecto antibacteriano in vitro de un colutorio elaborado con extracto alcohólico de Rosmarinus Officinalis (romero) sobre Enterococcus Faecalis en el que se menciona que el colutorio elaborado a base de Extracto Alcohólico de R. Officinalis tiene efecto antibacteriano in vitro frente a Enterococcus Faecalis superando al control positivo Gluconato de Clorhexidina al 0,12% en más de un 30% de inhibitoria”. De la misma forma se estableció la CMI y la CMB del colutorio elaborado a base de extracto alcohólico de “Rosmarinus Officinalis” sobre “E. faecalis” siendo esta de 3 mg/mL y 6 mg/mL respectivamente.<sup>3</sup> así mismo es coincidente con lo reportado por Salirrosas W. en su tesis titulada: “Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de “Rosmarinus officinalis” sobre “Enterococcus faecalis” ATCC 29212” concluyeron que las concentraciones de aceite esencial de romero tienen una actividad inhibitoria in vitro sobre el crecimiento de “Enterococcus faecalis”.<sup>4</sup> Nuestros hallazgos son importantes por cuanto tenemos nuevas herramientas para controlar al “Enterococcus faecalis” como el microorganismo prevalente en las piezas dentarias con fracaso endodóntico, sin embargo aún tenemos que evaluar el grado de toxicidad del producto, efecto residual por lo que se recomienda diseñar próximos estudios para verificar este hecho además de conocer sus efectos en otros tipos de microorganismos; otro si

digo que se cumpla el principio de causalidad de Bradford Hill que señala que los resultados de los estudios experimentales deben ser sometidos a comprobación su constancia y consistencia en otro tiempo y espacio para generar odontología basada en evidencia que a través de las revisiones sistemáticas o meta análisis nos puedan indicar si los hallazgos que reportamos como estudio individuales se cumplen cuando estas se integran.

## CONCLUSIONES

Con un error  $p=0,364$  podemos concluir que no se encontró diferencias significativas en la eficacia antibacteriana in vitro de “Rosmarinus officinalis” al 6,0%; 10,0% e Hipoclorito de Sodio al 5,0% después de 1 a 3 minutos de exposición sobre los conos de gutapercha contaminados con “Enterococcus faecalis” en el laboratorio de la Universidad “Alas Peruanas” filial Ica, 2018.

La eficacia antibacteriana in vitro del “Extracto etanólico de Rosmarinus officinalis” al 6,0% en un minuto de exposición tuvo un promedio de 2 UFC/ml sobre los conos de gutapercha contaminados con “Enterococcus faecalis”.

La eficacia antibacteriana in vitro del “Extracto etanólico de Rosmarinus officinalis” al 6,0% en tres minutos de exposición tuvo un promedio de 1,33 UFC/ml sobre los conos de gutapercha contaminados con “Enterococcus faecalis”.

La eficacia antibacteriana in vitro del “Extracto etanólico de Rosmarinus officinalis” al 10,0% en un minuto de exposición tuvo un promedio de 2,33 UFC/ml sobre los conos de gutapercha contaminados con “Enterococcus faecalis”.

La eficacia antibacteriana in vitro del “Extracto etanólico de Rosmarinus officinalis” al 10,0% en tres minutos de exposición tuvo un promedio de 0,00 UFC/ml sobre los conos de gutapercha contaminados con “Enterococcus faecalis”.

La eficacia antibacteriana in vitro del “Hipoclorito de Sodio” al 5,0% en un minuto de exposición tuvo un promedio de 0,83 UFC/ml sobre los conos de gutapercha contaminados con “Enterococcus faecalis”.

La eficacia antibacteriana in vitro del “Hipoclorito de Sodio” al 5,0% en tres minutos de exposición tuvo un promedio de 0,50 UFC/ml sobre los conos de gutapercha contaminados con “Enterococcus faecalis”.

## RECOMENDACIONES

Dado los hallazgos similares con el grupo control positivo (Hipoclorito al 5,0%) recomendamos la aplicación indistinta del “*Rosmarinus officinalis*” al 6,0%; 10,0% sea después de 1 a 3 minutos de exposición sobre los conos de gutapercha contaminados con “*Enterococcus faecalis*”.

Recomendamos diseñar próximos estudios para verificar el grado de toxicidad del “*Rosmarinus officinalis*” al 6,0%; 10,0% sea después de 1 a 3 minutos de exposición sobre los conos de gutapercha contaminados.

Recomendamos diseñar próximos estudios para verificar el grado de eficacia del “*Rosmarinus officinalis*” al 6,0%; 10,0% sea después de 1 a 3 minutos de exposición sobre los conos de gutapercha contaminados con otros tipos de microorganismos prevalentes en el conducto dentario.

Recomendamos citar nuestros hallazgos para verificar la constancia y consistencia de nuestros resultados en otro tiempo y espacio.

## FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Pupo S. (Colombia 2014) Díaz A, Castellanos P, Simancas V. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/odonto/v30n5/original3.pdf>
2. Viviane C. (Brasil 2017), Sampaio F, Soares A, Teixeira L, Oliveira Q, Barcelos R, Gleiser R, Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00016357.2017.1328742?journalCode=iode20>
3. Loja-Montoya M. (Perú 2017) Disponible en: [https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/USSS\\_650bd5333b87f13e0c181d033cc13a1http://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/USSS\\_e53cbfa98e7b74eed9bfe7ee7b48a19http://renati.sunedu.gob.pe/handle/sunedu/162254](https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/USSS_650bd5333b87f13e0c181d033cc13a1http://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/USSS_e53cbfa98e7b74eed9bfe7ee7b48a19http://renati.sunedu.gob.pe/handle/sunedu/162254)
4. Salirrosas W. (Perú 2016). Disponible en: [https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNIT\\_656e91c2b383d2eca2c32b759013bc62](https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNIT_656e91c2b383d2eca2c32b759013bc62)
5. Diaz AC. Aspectos relevantes de Enterococcus Faecalis y su participación en las infecciones de origen endodóntico. Carlos Bóveda [Revista en internet]. 2008 [acceso 29 agosto del 2018]. Disponible en: [http://www.carlosboveda.com/Odontologosfolder/odontoinvitadoold/odontoinvitado\\_55.htm](http://www.carlosboveda.com/Odontologosfolder/odontoinvitadoold/odontoinvitado_55.htm)
6. Abarca C, Lemus M, Nuñez M. Evaluación de las propiedades de los conos de gutapercha y cementos selladores utilizados en la obturación de conductos radiculares. Investigación Documental. 2004 Febrero [acceso internet 2 octubre del 2018]. Disponible en: <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/7933/1/17100223.pdf>
7. Bobbio S. Soluciones Irrigantes En Endodoncia. Universidad Peruana Cayetano Heredia Facultad de Estomatología Roberto Beltrán. Lima – Perú 2009. [acceso internet 15 noviembre del 2018]. Disponible en: [http://www.cop.org.pe/bib/investigacionbibliografica/SANDRAVANESSABOBBIOA\\_BAD.pdf](http://www.cop.org.pe/bib/investigacionbibliografica/SANDRAVANESSABOBBIOA_BAD.pdf)
8. Flores E, Saenz A. Romero (rosmarinus officinalis L.): su origen, importancia y generalidades de sus metabolitos secundarios. Artículos de revisión. Mexico 2020.

[acceso internet diciembre 2020]. Disponible en:

[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-888X2020000100212](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-888X2020000100212)

9. Argimon- Pallás J, Jimenez -Villa J. Bases metodológicas de la investigación clínica y epidemiológica. 4ta Ed. Elsevier. España. 2015. Pág. 30
10. Carrasco S. Metodología de la investigación Científica. 2da Ed. Editorial San Martin E.I.R.L. Lima Perú. 2017. 42 p
11. Alvarado 2017, Cano 2017, Montero 2017. Procedimientos laboratoriales de recolección de datos.
12. Castro YA. Proyectos de investigación. Un enfoque para el odontólogo general. Editorial académica española. 2014.p 180
13. Rius-Diaz F, Barón López FJ. Bioestadística. España. Thompson Editores Spain. 2005. 11-21 pp
14. García JJ. Bioética personalista y bioeticaprincipialista. [Online].; 2014 [cited 2016 Abril 15. Available from: <http://www.bioeticaweb.com/bioactica-personalista-y-bioactica-principialista-perspectivas/>.

# ANEXOS

## ANEXO N° 1: MATRIZ DE CONSISTENCIA

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPOTESIS GENERAL	Operacionalización					
			Variables	Dimensiones	Indicador	Valor final	Escala	Técnica e instrumento
<p><b>PG:</b> ¿Cuál es la eficacia antibacteriana in vitro de Rosmarinus Officinalis comparado con Hipoclorito de Sodio en conos de gutapercha contaminados en el laboratorio de la Universidad "Alas Peruanas" filial Ica en el año 2018?</p> <p style="text-align: center;"><b>ESPECIFICOS</b></p> <p><b>PE 01:</b> ¿Cuál es la eficacia antibacteriana in vitro del extracto etanólico de Rosmarinus Officinalis al 6% en un minuto de exposición en conos de gutapercha contaminados con <i>Enterococcus faecalis</i> en el laboratorio de la Universidad "Alas Peruanas" filial Ica en el año 2018?</p> <p><b>PE 2:</b> ¿Cuál es la eficacia antibacteriana in vitro del extracto etanólico de Rosmarinus Officinalis al 6% en un tres minutos de exposición en conos de gutapercha contaminados con <i>Enterococcus faecalis</i> en el laboratorio de la Universidad "Alas Peruanas" filial Ica en el año 2018?</p>	<p><b>OG :</b> "Analizar la eficacia antibacteriana in vitro de Rosmarinus Officinalis comparado con Hipoclorito de Sodio en conos de gutapercha contaminados en el laboratorio de la Universidad Alas Peruanas filial Ica en el año 2018"</p> <p style="text-align: center;"><b>ESPECIFICOS</b></p> <p><b>OE 01:</b> "Evaluar la eficacia antibacteriana in vitro del extracto etanólico de Rosmarinus Officinalis al 6% en un minuto de exposición en conos de gutapercha contaminados con <i>Enterococcus faecalis</i> en el laboratorio de la Universidad Alas Peruanas filial Ica en el año 2018"</p> <p><b>OE 2:</b> "Evaluar la eficacia antibacteriana in vitro del extracto etanólico de Rosmarinus Officinalis al 6% en un tres minutos de exposición en conos de gutapercha contaminados con <i>Enterococcus faecalis</i> en el laboratorio de la Universidad Alas Peruanas filial Ica en el año 2018"</p>	<p><b>HG:</b> "Existen diferencias significativas en la eficacia antibacteriana in vitro de Rosmarinus Officinalis comparado con Hipoclorito de Sodio en conos de gutapercha contaminados en el laboratorio de la Universidad Alas Peruanas filial Ica en el año 2018"</p>	<p style="text-align: center;"><b>Variable independiente</b></p> <p>Extracto etanólico de Rosmarinus Officinalis</p>	<p>Rosmarinus Officinalis 6%</p> <p>Rosmarinus Officinalis 10%</p> <p>Hipoclorito de Sodio</p>	<p>Extracto etanólico al 6%</p> <p>Extracto etanólico al 10%</p> <p>Concentración al 5%</p>	<p>Si No</p> <p>Si No</p>	<p>Nominal</p> <p>Nominal</p>	<p>Ficha de recolección de datos</p> <p>Mediciones biológicas</p> <p>Cultivos</p>
			<p style="text-align: center;"><b>Variable dependiente</b></p> <p>Eficacia antibacteriana</p>	<p>Eficacia antibacteriana</p>	<p>Conteo de enterococcus faecalis en 1 a 3 minutos de exposición</p>	<p>UFC/ml</p>	<p>Razón</p>	

PROBLEMAS ESPECIFICOS	OBJETIVOS ESPECIFICOS	HIPOTESIS GENERAL	Operacionalización					
			Variables	Dimensiones	Indicador	Valor final	Escala	Técnica e instrumento
<p><b>PE 3:</b> ¿Cuál es la eficacia antibacteriana in vitro del extracto etanólico de Rosmarinus Officinalis 10% en uno minuto de exposición en conos de gutapercha contaminados con <i>Enterococcus faecalis</i> en el laboratorio de la Universidad "Alas Peruanas" filial Ica en el año 2018?</p>	<p><b>OE 3:</b> "Evaluar la eficacia antibacteriana in vitro del extracto etanólico de Rosmarinus Officinalis 10% en uno minuto de exposición en conos de gutapercha contaminados con <i>Enterococcus faecalis</i> en el laboratorio de la Universidad Alas Peruanas filial Ica en el año 2018"</p>	<p><b>HG:</b> "Existen diferencias significativas en la eficacia antibacteriana in vitro de Rosmarinus Officinalis comparado con Hipoclorito de Sodio en conos de gutapercha contaminados en el laboratorio de la Universidad Alas Peruanas filial Ica en el año 2018".</p>	<p><b>Variable independiente</b></p> <p>Extracto etanolico de Rosmarinus Officinalis</p>	<p>Rosmarinus Officinalis 6%</p>	<p>Extracto etanólico al 6%</p>	<p>Si No</p>	<p>Nominal</p>	<p>Ficha de recolección de datos</p>
			<p>Rosmarinus Officinalis 10%</p>	<p>Extracto etanólico al 10%</p>				
<p><b>PE 4:</b> ¿Cuál es la eficacia antibacteriana in vitro del extracto etanólico de Rosmarinus Officinalis al 10% en tres minutos de exposición en conos de gutapercha contaminados con <i>Enterococcus faecalis</i> en el laboratorio de la Universidad "Alas Peruanas" filial Ica en el año 2018?</p>	<p><b>OE 4:</b> "Evaluar la eficacia antibacteriana in vitro del extracto etanólico de Rosmarinus Officinalis al 10% en tres minutos de exposición en conos de gutapercha contaminados con <i>Enterococcus faecalis</i> en el laboratorio de la Universidad Alas Peruanas filial Ica en el año 2018".</p>			<p>Hipoclorito de Sodio</p>	<p>Hipoclorio de sodio</p>	<p>Concentración al 5%</p>	<p>Si No</p>	<p>Nominal</p>
<p><b>PE 5:</b> ¿Cuál es la eficacia antibacteriana in vitro del Hipoclorito de Sodio al 5% en un minuto de exposición en conos de gutapercha contaminados con <i>Enterococcus faecalis</i> en el laboratorio de la Universidad "Alas Peruanas" filial Ica en el año 2018?</p>	<p><b>OE 5:</b> "Evaluar la eficacia antibacteriana in vitro del Hipoclorito de Sodio al 5% en un minuto de exposición en conos de gutapercha contaminados con <i>Enterococcus faecalis</i> en el laboratorio de la Universidad Alas Peruanas filial Ica en el año 2018".</p>		<p><b>Variable dependiente</b></p> <p>Eficacia antibacteriana</p>	<p>Eficacia antibacteriana</p>	<p>Conteo de enterococcus faecalis en 1 a 3 minutos de exposicion</p>	<p>UFC/ml</p>	<p>Razón</p>	<p>Cultivos</p>

PROBLEMAS ESPECIFICOS	OBJETIVOS ESPECIFICOS	HIPOTESIS GENERAL	Operacionalización					
			Variables	Dimensiones	Indicador	Valor final	Escala	Técnica e instrumento
<b>PE 6:</b> ¿Cuál es la eficacia antibacteriana <i>in vitro</i> del Hipoclorito de Sodio al 5% en tres minutos de exposición en conos de gutapercha contaminados con <i>Enterococcus faecalis</i> en el laboratorio de la Universidad "Alas Peruanas" filial Ica en el año 2018?	<b>OE 6:</b> "Evaluar la eficacia antibacteriana <i>in vitro</i> del Hipoclorito de Sodio al 5% en tres minutos de exposición en conos de gutapercha contaminados con <i>Enterococcus faecalis</i> en el laboratorio de la Universidad Alas Peruanas filial Ica en el año 2018".	<b>HG:</b> "Existen diferencias significativas en la eficacia antibacteriana <i>in vitro</i> de <i>Rosmarinus Officinalis</i> comparado con Hipoclorito de Sodio en conos de gutapercha contaminados en el laboratorio de la Universidad Alas Peruanas filial Ica en el año 2018"	<b>Variable independiente</b> Extracto etanolico de Rosmarinus Officinalis	Rosmarinus Officinalis 6%	Extracto etanólico al 6%	Si No	Nominal	Ficha de recolección de datos
				Rosmarinus Officinalis 10%	Extracto etanólico al 10%			
			Hipoclorito de Sodio	Hipoclorio de sodio	Concentración al 5%	Si No	Nominal	
			<b>Variable dependiente</b> Eficacia antibacteriana	Eficacia antibacteriana	Conteo de enterococcus faecalis en 1 a 3 minutos de exposicion	UFC/ml	Razón	Mediciones biológicas  Cultivos

**TÍTULO**

“EFICACIA ANTIBACTERIANA IN VITRO DE EXTRACTO ETANOLICO DE ROSMARINUS OFFICINALIS EN UNO Y TRES MINUTOS DE EXPOSICIÓN EN CONOS DE GUTAPERCHA CONTAMINADOS CON ENTEROCOCCUS FAECALIS”

**Grupo experimental 1: Extracto etanolico DE ROSMARINUS OFFICINALIS al 6%**

Muestra	Basal	Recuento UFC/ml	
		1 minuto	3 minutos
1	Recuento de Enterococcus Faecalis 1,5 x 10 <sup>5</sup> UFC/ml		
2			
3			
4			
5			
6			

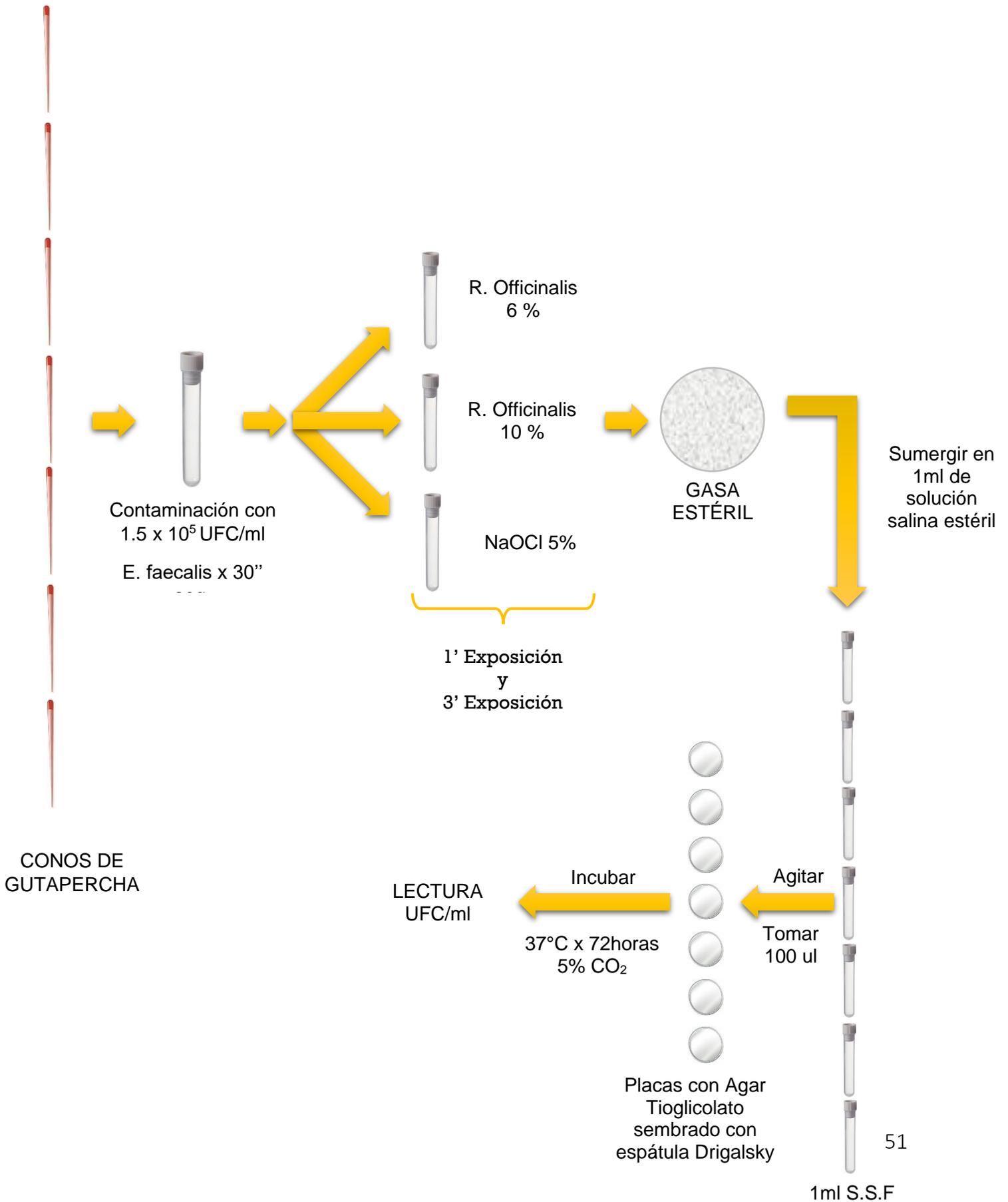
**Grupo experimental 2: Extracto etanolico DE ROSMARINUS OFFICINALIS al 10%**

Muestra	Basal	Recuento UFC/ml	
		1 minuto	3 minutos
1	Recuento de Enterococcus Faecalis 1,5 x 10 <sup>5</sup> UFC/ml		
2			
3			
4			
5			
6			

**Grupo control positivo 3: Hipoclorito de Sodio 5%**

Muestra	Basal	Recuento UFC/ml	
		1 minuto	3 minutos
1	Recuento de Enterococcus Faecalis 1,5 x 10 <sup>5</sup> UFC/ml		
2			
3			
4			
5			
6			

### ANEXO N° 3: FLUJOGRAMA



### Anexo N° 4: Juicio de expertos

#### VALIDACIÓN POR JUECES

HOJA DE RESPUESTA: Colocar el número 1; 2; 3 y/o 4 según su apreciación

DI MENSION	ITEM	RELEVANCIA	COHERENCIA	SUFICIENCIA*	CLARIDAD
Extracto etanólico de Rosmarinus officinalis	Rosmarinus Officinalis 6% Exposición en 1 min	4	4	4	4
	Rosmarinus Officinalis 6% Exposición en 3 min	4	4		4
Hipoclorito de Sodio 5%	Hipoclorito de Sodio 5% Exposición en 1 min	4	4	4	4
	Hipoclorito de Sodio 5% Exposición en 3 min	4	4		4
Conos de Gutapercha contaminados con Enterococcus faecalis	Recuento de Enterococcus faecalis UFC/ml	4	4	3	4

¿Hay alguna dimensión que hace parte del constructo y no fue evaluada? \_\_\_\_\_

De ser el caso ¿Cuál y por qué? \_\_\_\_\_

Firma del evaluador \_\_\_\_\_

  
 Dr. Enrique Salcedo Moron  
 CIRUJANO DENTISTA  
 C.O.P. 12881

## VALIDACIÓN POR JUECES

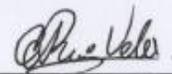
HOJA DE RESPUESTA: Colocar el número 1; 2; 3 y/o 4 según su apreciación

DIMENSIÓN	ITEM	RELEVANCIA	COHERENCIA	SUFICIENCIA*	CLARIDAD
Extracto etanólico de Rosmarinus officinalis	Rosmarinus Officinalis 6% Exposición en 1 min	4	4	4	4
	Rosmarinus Officinalis 6% Exposición en 3 min	4	4		4
Hipoclorito de Sodio 5%	Hipoclorito de Sodio 5% Exposición en 1 min	4	4	4	4
	Hipoclorito de Sodio 5% Exposición en 3 min	4	4		4
Conos de Gutapercha contaminados con Enterococcus faecalis	Recuento de Enterococcus faecalis UFC/ml	4	4	3	4

¿Hay alguna dimensión que hace parte del constructo y no fue evaluada? \_\_\_\_\_

De ser el caso ¿Cuál y por qué? \_\_\_\_\_

Firma del evaluador \_\_\_\_\_



.....  
**GABRIEL RUIZ VELA**  
 Cirujano Dentista  
 C.O.P 33315

## VALIDACIÓN POR JUECES

**Hoja de respuestas:** Colocar el número 1,2,3 y/o 4 según su apreciación

DIMENSIÓN	ÍTEM	RELEVANCIA	COHERENCIA	SUFICIENCIA*	CLARIDAD
Extracto etanólico de <i>Rosmarinus Officinalis</i>	<i>Rosmarinus Officinalis</i> al 6% Exposición en 1 min	4	4	4	4
	<i>Rosmarinus Officinalis</i> al 6% Exposición en 3 min	4	4		4
Hipoclorito de Sodio 5%	Hipoclorito de Sodio 5%. Exposición en 1 min	4	4	4	4
	Hipoclorito de Sodio 5%. Exposición en 3 min	4	4		4
Conos de gutapercha contaminados con <i>Enterococcus faecalis</i>	Recuento de <i>Enterococcus faecalis</i> UFC/ml	4	4	3	4

¿Hay alguna dimensión que hace parte del constructo y no fue evaluada? \_\_\_\_\_

De ser el caso ¿Cuál y por qué? "Las comparaciones del recuento en UFC/ml del *enterococcus faecalis* deberán compararse con una prueba post hot (Tukey, Duncan) de tal manera que de la interpretación de los subconjuntos se concluya si existe o no existe diferencias".

Firma del evaluador \_\_\_\_\_

  
 Mag. José A. Villalón  
 INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA  
 EN CIENCIAS DE LA SALUD  
 C.O.P. 8712

## Anexo N° 5: Fotografías



**Foto 1:** Tesista con materiales necesarios para la Investigación según Protocolo.



**Foto 2.** Relación de materiales de laboratorio para la ejecución del Protocolo de investigación.



**Foto 3.** Virtiendo los conos de gutapercha en el cultivo de *Enterococcus faecalis*, para su contaminación.



**Foto 4.** Extracción de conos de gutapercha del tubo con extracto de Romero.



**Foto 5.** Conos de gutapercha en tubo con Hipoclorito de Sodio al 5%.



**Foto 6.** Introduciendo conos de gutapercha en tubos con 1 mL de S.S.F., luego del tratamiento con extracto de romero al 6 % y 10% e Hipoclorito de sodio al 5%.



**Foto 7.** Extracción de 0.1 mL de la suspensión obtenida en S.S.F. (inóculo)



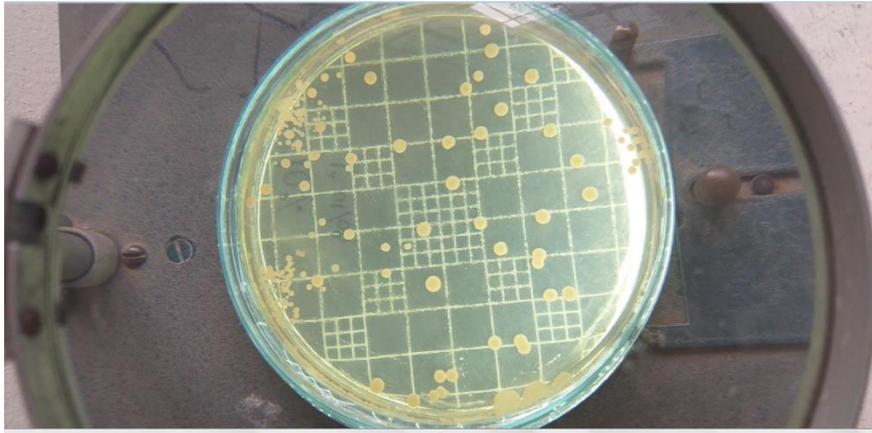
**Foto 8.** Vertido del inóculo sobre la superficie de agar Tioglicolato.



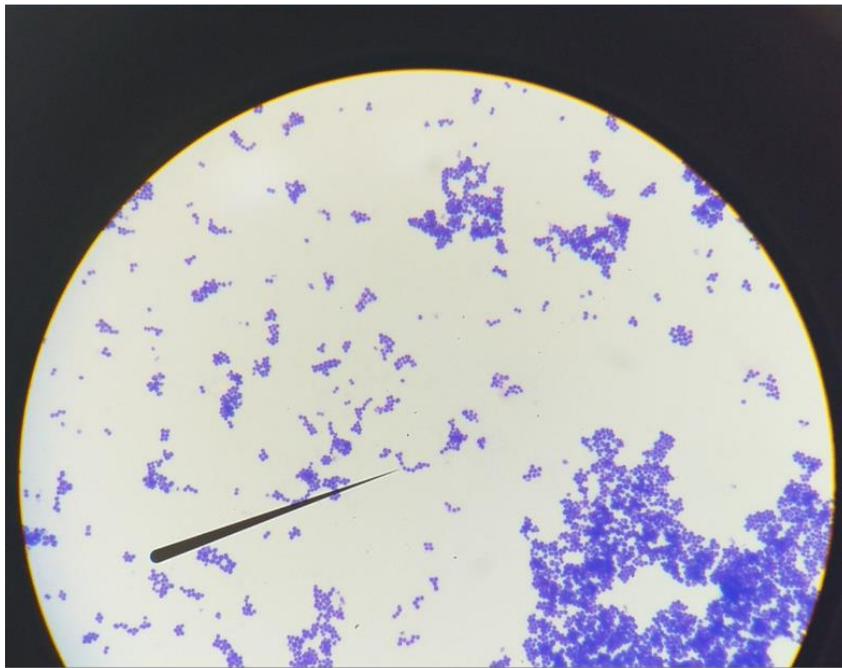
**Foto 9.** Siembra en superficie del agar Tioglicolato con espátula de Drigalsky.



**Foto 10.** Incubación de los cultivos en Placas a 37°C y atmósfera con CO<sub>2</sub>.



**Foto 11.** Lectura utilizando el contador de colonias.



**Foto 12.** Tinción de Gram de *Enterococcus faecalis* a 1000X.