

# UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO

FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

ESCUELA DE ESTOMATOLOGÍA



EFICACIA ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL GEL NATURAL DE *ALOE BARBADENSIS*, CLORHEXIDINA  
2% E HIDRÓXIDO DE CALCIO SOBRE *ENTEROCOCCUS FAECALIS* ATCC 29212

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
CIRUJANO DENTISTA

AUTOR

Bach. Cassana Rojas, Luis Rodrigo

ASESOR

Ms. C.D Espinoza Salcedo, María Victoria

CO-ASESOR

Dra. Elva Mejía Silva

TRUJILLO – PERU

2016

**PAGINA DEL JURADO**

“EFICACIA ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL GEL NATURAL DE ALOE  
BARBADENSIS, CLORHEXIDINA 2% E HIDRÓXIDO DE CALCIO SOBRE  
*ENTEROCOCCUS FAECALIS* ATCC 29212”

---

**PRESIDENTE DEL JURADO**

---

**SECRETARIO DEL JURADO**

---

**VOCAL DEL JURADO**

## **DEDICATORIA**

*A Dios, por su gran amor, porque con el de la mano se pude llegar a superar muchos obstáculos y adversidades y por haberme permitido llegar a este momento junto a mi familia.*

*A mis Madre Dora, por su amor incondicional, por confiar siempre en mí, por su eterno apoyo y sacrificio, su aliento en los momentos más difíciles y porque a pesar de todo estará a mi lado a cambio de nada, gracias a ella por la mejor herencia que es ser un profesional.*

*A mis hermanos Camila y Fabrizzio, porque a pesar de todo seguirán mi ejemplo y siempre estaremos juntos para apoyarnos unos a otros.*

*A Rocío y Patty, por su apoyo y cariño desde siempre, por cuidarme y aconsejarme desde muy pequeño y porque siempre serán mi ejemplo a seguir.*

*A toda mi familia, pues gracias a su afecto y ayuda nunca me sentí solo fuera de casa.*

## **AGRADECIMIENTO**

- A la Universidad Privada Antenor Orrego
- A mi Asesora Dra. María Espinoza Salcedo, por su gran apoyo y aporte académico para la realización de este trabajo, sobre todo por confiar en mi persona y por ser una excelente persona.
- A la Dra. Elva Mejía Delgado, por apoyarme y disponer de su tiempo durante la ejecución del presente estudio, así como también por su gran paciencia, cariño y bondad.
- A la QF. Dra. Carmen Ayala Jara, por su aporte en la preparación del gel de clorhexidina, por su gran ayuda en cada momento que la solicité.
- Al Dr. Sergio Chafloque, por su asesoramiento en la parte estadística.
- A mis tíos Manuel, Aurea, primos Luly y Josemanuel por haberme acogido por tanto tiempo en su casa y por todo el afecto que me brindan cada vez que nos vemos, y a mis primos Jean y Paola porque con ustedes era más fácil estar lejos de nuestra ciudad.
- A mis amigos, por su cariño, su ayuda y por su incondicional amistad en el transcurso de todos los años académicos.

## **RESUMEN**

**Objetivo:** Evaluar la eficacia antibacteriana *in vitro* mediante el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) y la medida de halos de inhibición del gel natural de *Aloe barbadensis* (Aloe Vera), gel de Clorhexidina al 2% e hidróxido de calcio sobre *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212.

**Materiales y Método:** Se realizó un estudio prospectivo, longitudinal, comparativo y experimental. Se evaluaron 2 geles y 2 combinaciones, para los cuales se utilizaron 14 muestras para cada uno. Se empleó la prueba estadística mediante el análisis de varianza y la prueba de comparaciones múltiples de Duncan, para comparar y determinar la eficacia antibacteriana, con un nivel de significancia estadística de 0.05.

**Resultados:** El gel de Aloe vera no presentó eficacia según UFC y Halos de inhibición, la combinación del gel de Aloe Vera e hidróxido de calcio tampoco posee eficacia según UFC sin embargo generó sensibilidad a la medida de Halos de inhibición; el gel de Clorhexidina 2% puro y su combinación con hidróxido de calcio fueron eficaces sobre *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 según UFC y Halos de inhibición.

**Conclusiones:** El gel de *Aloe barbadensis* (Aloe Vera) puro y su combinación con hidróxido de calcio no posee efecto antibacteriano relevante frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 según el conteo de UFC y la medida de halos de inhibición comparado al gel de Clorhexidina 2% puro y su combinación con hidróxido de calcio que sí presentó efecto antibacteriano.

**Palabras clave:** Efecto antibacteriano, *Aloe Barbadensis*(Aloe Vera), Clorhexidina 2%, *Hidróxido de calcio*, *Enterococcus Faecalis*.

## **ABSTRACT**

**Objective:** To evaluate the antibacterial efficacy in vitro by counting colony forming units (CFU) and the extent of inhibition halos of *Aloe barbadensis* (Aloe vera) natural gel, 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide on *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

**Materials and Methods:** A prospective, longitudinal, comparative and experimental study. 2 gels and 2 combinations were evaluated, for which 14 samples each for both were used. Statistical test was used by analysis of variance and multiple comparison test of Duncan, to compare and determine the antibacterial efficacy, with a level of statistical significance of 0.05.

**Results:** Aloe vera gel didn't present effectiveness as UFC and inhibition Halos, the combination of Aloe Vera gel and calcium hydroxide neither has efficacy according UFC however generated sensitivity as measured to inhibition Halos; chlorhexidine gel 2% pure and its combination with calcium hydroxide were effective on *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 as UFC and zones of inhibition.

**Conclusions:** The gel of *Aloe barbadensis* (Aloe Vera) and pure combination with calcium hydroxide hasn't significant antibacterial effect against *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 as UFC counting and measuring inhibition halos compared to 2% chlorhexidine gel and pure combination with calcium hydroxide that effect occurs.

**Keywords:** Antibacterial, *Aloe Barbadensis* (Aloe Vera), 2% Chlorhexidine, Calcium hydroxide, *Enterococcus faecalis*.

## ÍNDICE

	PAG.
I. INTRODUCCIÓN	1
II. DISEÑO METODOLÓGICO	8
III. RESULTADOS	18
IV. DISCUSIÓN	25
V. CONCLUSIONES	28
VI. RECOMENDACIONES	30
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	31
VIII. ANEXOS	34

## I. INTRODUCCIÓN

El conocimiento de las propiedades terapéuticas de las plantas es un verdadero desafío para la medicina moderna. Cada día se suman importantes estudios e investigaciones descubriendo o confirmando numerosos efectos benéficos. En odontología, la fitoterapia está logrando adquirir una gran importancia por la necesidad de evaluar la efectividad antibacteriana de las plantas frente a diversas bacterias patógenas existentes en la cavidad oral.

La eficacia antibacteriana es la capacidad de ciertas sustancias de detener o inhibir el crecimiento o desarrollo de bacterias en un tiempo y lugar determinado.<sup>1</sup>

Es decir que pueden evitar la reproducción bacteriana, pero no matar a estas, o producir su muerte. La capacidad de un agente antibacteriano para inhibir o producir la lisis de los microorganismo patógenos depende de su concentración y temperatura.<sup>2</sup>

*Aloe barbadensis miller (Aloe Vera)* pertenecen a la familia liliaceal, de los cuales hay cerca de 360 especies. Es un cactus como la planta que crece en climas cálidos y secos. Numerosos estudios sobre Aloe vera se están haciendo para demostrar su poder antiviral, antibacteriano, y además, de su otro uso como analgésico, anti-inflamatorio, las propiedades de curación de heridas que la planta posee.<sup>3</sup>

En odontología *Aloe vera* se utiliza en casos de úlceras aftosas, de liquen plano, la osteítis alveolar y se ha demostrado efecto antimicrobiano frente a microorganismos resistentes que se encuentran en el espacio pulpar. *Enterococcus faecalis* ha sido asociada con la insuficiencia de la pulpa y se ha demostrado que *Enterococcus faecalis* puede tolerar el efecto antibacteriano de tratamiento de hidróxido de calcio.<sup>3</sup>

Cosméticos y algunos medicamentos están hechos de tejido mucilaginoso en el centro de la hoja de *Aloe vera* y se llama como el gel de *Aloe vera*. Extractos totales de la hoja contienen antraquinonas, las que tienen propiedades antibacterianas.<sup>4</sup>



Así también, los polisacáridos mucilaginosos son los principios activos responsables de la actividad biológica del gel<sup>5-7</sup>, en tal sentido, se ha demostrado una cierta actividad antimicrobiana del gel frente a diferentes microorganismos como *Trichophyton mentagrophytes*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*.<sup>8,9</sup>

En 1980 se afirmó que la infección retarda la curación de las heridas y que parte de la eficacia del gel de aloe estaría en sus propiedades antibióticas. Por ende, existen dos aspectos a considerar: el primero, la obvia actividad antibiótica contra patógenos, y segundo, que estas bacterias pueden retardar el proceso de curación y contribuir a la inflamación.<sup>10</sup>

Sobre la actividad anti fúngica se ha reportado una actividad inespecífica inhibitoria contra determinadas especies de hongos, tales como el *Trichophyton spp.* y *Candida albicans*. Se reporta que la actividad inhibitoria sobre el *Trichophyton mentagrophytes* estaría relacionada a los compuestos de bajo peso molecular que contienen barbaloina, y menos actividad de los compuestos de alto peso molecular.<sup>11</sup> La actividad inhibitoria sobre la *Candida albicans* estaría en la savia o en preparaciones del gel de *Aloe vera*.<sup>10</sup> En otra investigación se demostró que los macrófagos estimulados por el acenaman, eliminan la *Candida albicans*.<sup>12</sup>

El gel de clorhexidina es un medicamento intracanal e irrigante en endodoncia. La clorhexidina tiene una actividad antimicrobiana de amplio espectro dirigida microbios tanto gram - positivas y gram-negativas. <sup>4</sup>

La clorhexidina (CHX) es un antiséptico catiónico bisguanídico con acción antimicrobiana que en bajas concentraciones es bacteriostático y en altas concentraciones tiene acción bactericida.<sup>13, 14</sup> Su mecanismo de acción se basa en la absorción del medicamento a través de la pared celular de la bacteria, provocando el rompimiento en los enlaces peptídicos en la membrana citoplasmática, así como la precipitación y/o coagulación del citoplasma.<sup>15</sup>

Se ha demostrado que la CHX presenta baja toxicidad en los tejidos periapicales cuando es empleada como medicación intraconducto en concentraciones de 0.12 a 2%.<sup>16</sup> Algunos estudios han sugerido que la mayor actividad antimicrobiana de la clorhexidina se obtiene a las 48 ó 72 horas cuando se utiliza al 2%.<sup>14, 17</sup>

El Hidróxido de calcio tiene una amplia gama de la actividad antimicrobiana frente a patógenos endodónticos comunes pero es menos eficaz frente a *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*. El hidróxido de calcio es también un agente anti-endotoxina valiosa. Sin embargo, su efecto en biofilms microbianos es controversial.<sup>18</sup> La actividad antimicrobiana del hidróxido de calcio, dada por su pH alto, está relacionada con la liberación de iones hidróxilo en medio acuoso, que requiere un tiempo ideal para la destrucción efectiva del microorganismo.<sup>19</sup>

Para que el hidróxido de calcio, sea efectivo contra las bacterias localizadas en el interior de los túbulos dentinales, el ión hidróxilo del hidróxido de calcio, debe difundirse en concentraciones suficientes y exceder la capacidad buffer, reaccionando a niveles de pH suficientes para destruir la bacteria.<sup>19</sup>

Otro mecanismo que explica su actividad antimicrobiana es la capacidad que tiene el hidróxido de calcio para absorber dióxido de carbono, esencial para las bacterias; por tanto, su uso podría interrumpir la interrelación nutricional eliminando algunas bacterias necesarias para el crecimiento de otras, o permitiendo la presencia de bacterias, que inhiben el crecimiento de otras.<sup>19</sup>

El tiempo necesario para un efecto óptimo del hidróxido de calcio, en el conducto infectado no se conoce aún. Puede estar relacionado con la presencia o ausencia de exudado del conducto, del tipo de microorganismo involucrado, de la localización del microorganismo en el conducto y la presencia o ausencia de smear layer.<sup>19</sup>

*Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) es una bacteria en forma de coco dispuesta en cadenas o pares, Gram positiva, anaerobia facultativa, inmóvil y no esporulada, que en años recientes, ha atraído la atención de diversos investigadores porque ha sido identificada como una causa frecuente de infección del sistema de conductos radiculares en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico. Una característica notable de esta especie la constituye su capacidad para sobrevivir y crecer en microambientes que pudieran ser tóxicos para otras bacterias, entre estos en presencia de hidróxido de calcio.<sup>20</sup>

Durante mucho tiempo ha sido implicado en infecciones persistentes del conducto radicular y más recientemente se ha identificado como la especie más comúnmente recuperada de los canales de la raíz de los dientes con la enfermedad después del tratamiento.<sup>4</sup>

Gomes y cols(2003) evaluaron la efectividad de la clorhexidina al 2% y el hidróxido de calcio como medicamentos intra conductos contra el *Enterococcus faecalis* en 180 tubos de dentina de bovino, preparados de incisivos centrales recién extraídos del maxilar superior, fueron infectados in vitro con *Enterococcus faecalis*. Bajo las condiciones de este estudio se puede concluir que la clorhexidina gel 2% sola fue más efectiva contra el *Enterococcus Faecalis* que el hidróxido de calcio, pero que la actividad antibacteriana depende de cuánto tiempo esté dentro del canal el medicamento.<sup>16</sup>

Figueiredo y cols(2002) investigaron in vitro la actividad antimicrobiana de hidróxido de calcio en combinación con varios vehículos contra algunos microorganismos comúnmente aisladas de los conductos radiculares . La actividad antimicrobiana fue determinada por el método de difusión en agar. Se concluyó que la difusión de la actividad antimicrobiana de hidróxido de calcio se vio afectados por el tipo de vehículo utilizado.<sup>21</sup>

Dakshita y cols (2011) evaluaron la desinfección de los túbulos dentinarios usando hidróxido de calcio con glicol de propileno e hidróxido de calcio con yodoformo en aceite de silicona, en comparación con gel de clorhexidina al 2 %. El gel de clorhexidina al 2% tenían la actividad antimicrobiana y antifúngica más alta y las diferencias entre sus eficacias no fueron estadísticamente significativas. Concluyendo de esta forma que los tres medicamentos utilizados en este estudio ejercieron actividad antibacteriana y antifúngica.<sup>22</sup>

Lalitha y cols (2012) evaluaron la actividad antimicrobiana de dimetilsulfóxido (DMSO) y *Aloe barbadensis miller (Aloe vera)* gel contra los patógenos bacterianos y fúngicos seleccionados de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger*, *Candida albicans* y *Penicillium MSF*. Los resultados demostraron que la zona máxima de inhibición fue de 15 mm para *E. coli*, 13 mm para *P. mirabilis*, 11 mm para *Proteus mirabilis* y 10 mm para *Pseudomonas aeruginosa* de Gram Negativo y 16 mm para *Staphylococcus aureus* de Gram Positivo, 13 mm para *C. albicans* y 10 mm para *Penicillium sps.*<sup>23</sup>

García y cols(2009) evaluaron la actividad antimicrobiana de dos pastas utilizadas como medicamento intracanal: un hidróxido de calcio y *Ricinus communis* pasta de aceite (Pasta A) y una pasta de hidróxido de calcio y propilenglicol (Pasta B) contra los siguientes microorganismos, que se encuentran comúnmente en la cavidad oral, específicamente en infecciones endodónticas: *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis*, y *Candida albicans*. Los resultados demostraron que la pasta A propuso mayor inhibición de halos que la pasta B y el grupo control. <sup>24</sup>

Valera y cols (2012) evaluaron la actividad antimicrobiana de las sustancias químicas auxiliares y extractos naturales sobre *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis* inoculados en los conductos radiculares, en grupos G1) de hipoclorito de sodio 2,5% (NaOCl), G2) de gel de clorhexidina al 2%,G3) aceite de ricino, G4) extracto glicólico de *Aloe vera*, G5) extracto de jengibre glicólico, y G6) de solución salina estéril. Concluyeron que el hipoclorito de sodio 2,5 % y gel de clorhexidina al 2 % fueron más eficaces en la eliminación de *C. albicans* y *E. faecalis*, seguido por el aceite de ricino y extracto de jengibre glicólico. El extracto de *Aloe vera* no demostró actividad antimicrobiana. <sup>25</sup>

Jhonson y cols (2007) examinaron el potencial antimicrobiano de dimetilsulfóxido (DMSO) y extractos crudos de *Aloe barbadensis miller* gel contra los patógenos seleccionados. Los resultados demostraron que la actividad antibacteriana se ha observado en los extractos de DMSO de gel de *Aloe Vera* contra todas las bacterias probadas con actividad variada. Se observó que la zona máxima de inhibición de 13 mm para *E. coli*, 12 mm para *P. vulgaris*, 10,5 mm para *S. aureus*, 10 mm para *B. subtilis*, 11 mm para *C. albicans* y 9 mm para *Penicillium sps.* <sup>26</sup>

Kaithwas y cols (2008) evaluaron las actividades antimicrobianas y la concentración mínima inhibitoria (MIC) de gel de aloe vera y jugo de *Aloe vera* frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermididis*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus vulgaris*, *Aeruginosa psedomonous*. El jugo de *Aloe vera* demostró el efecto inhibitorio contra todos los microorganismos. Gel de *Aloe vera* sólo era eficaz contra *S. aureus*. MIC se determinó sólo para el jugo de aloe vera y se encontró que era más activo (89,9%) frente a *Proteus vulgaris*. <sup>27</sup>

Bhardwaj y cols (2012) compararon la actividad antimicrobiana de extractos de *Morinda citrifolia*, la papaína, y *Aloe vera* (todas las formulaciones de gel), gel de clorhexidina al 2% e hidróxido de calcio, frente a *Enterococcus faecalis* - un estudio in vitro. Los resultados demostraron que el porcentaje de inhibición global del crecimiento bacteriano (200 y 400 micras de profundidad) fue del 100% con gel de clorhexidina. Esto fue seguido por *M. citrifolia* gel (86,02%), que demostró una mejor eficacia antimicrobiana en comparación con el gel de *Aloe vera* (78,9%), la papaína en gel (67,3%), e hidróxido de calcio (64,3%).<sup>4</sup>

Martínez y cols(2008) analizaron el efecto antimicrobiano de dos diferentes mezclas de hidróxido de calcio, con propilenglicol y con gluconato de clorhexidina, sobre el *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). Los resultados demostraron algunas UFC a 1 min. De estar el hidróxido de calcio puro en contacto directo con el microorganismo a diferencia de los demás grupos del estudio, en los que fueron cero. El gluconato de clorhexidina utilizada al 13% demostró un mejor comportamiento. Sin embargo, los resultados no demostraron diferencias estadísticamente significativas.<sup>19</sup>

Muchos de los tratamientos endodónticos que se realizan no sólo presentan problemas de patologías pulpares sino también periapicales que requieren una medicación intra conducto que favorezca la desinfección del conducto con ayuda de una buena preparación biomecánica e irrigación. El éxito de todo tratamiento endodóntico es poder obturar un conducto seco, que no haya dolor, inflamación ni presencia de bacterias. Existe una relación entre la presencia de *Enterococcus faecalis* en el fracaso de los tratamientos endodónticos y se han realizado mucho estudios sobre su eliminación absoluta los cuales no han sido concluyentes, por lo que se siguen realizando estudios con el objetivo de disminuir la presencia de este microorganismo, que es una de la causas de los fracasos endodónticos.

Por lo tanto el propósito del presente estudio fue determinar la eficacia antibacteriana del gel natural de *Aloe barbadensis*, clorhexidina al 2% solos y en combinaciones con hidróxido de calcio sobre *Enterococcus Faecalis* ATCC 2912.

## **1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:**

¿Existe diferencia en la eficacia antibacteriana *in vitro* de gel natural de *Aloe barbadensis*, clorhexidina al 2% e hidróxido de calcio sobre *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212?

## **2 HIPÓTESIS:**

Si existe diferencia en la eficacia antibacteriana *in vitro* de gel natural de *Aloe barbadensis*, clorhexidina al 2% e hidróxido de calcio sobre *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212

## **3 OBJETIVOS**

### **3.1 OBJETIVO GENERAL:**

Evaluar la eficacia antibacteriana *in vitro* mediante el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) y la medida de halos de inhibición del gel natural de *Aloe barbadensis* (Aloe Vera), clorhexidina al 2% e hidróxido de calcio sobre *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212.

### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Determinar la eficacia antibacteriana *in vitro* (UFC) del Gel Aloe Vera, Gel Clorhexidina 2%, Gel Aloe Vera + Hidróxido de calcio y Gel de Clorhexidina 2% + Hidróxido de calcio sobre *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 a los 3, 5 y 7 días de aplicación.
- Comparar la eficacia antibacteriana *in vitro* (UFC) del Gel Aloe Vera, Gel Clorhexidina 2%, Gel Aloe Vera + Hidróxido de calcio y Gel de Clorhexidina 2% + Hidróxido de calcio sobre *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 a los 3, 5 y 7 días de aplicación.
- Determinar la eficacia antibacteriana *in vitro* (Halos de Inhibición mm) del Gel Aloe Vera, Gel Clorhexidina 2%, Gel Aloe Vera + Hidróxido de calcio y Gel de Clorhexidina 2% + Hidróxido de calcio sobre *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212.
- Comparar la eficacia antibacteriana *in vitro* (Halos de Inhibición mm) del Gel Aloe Vera, Gel Clorhexidina 2%, Gel Aloe Vera + Hidróxido de calcio y Gel de Clorhexidina 2% + Hidróxido de calcio sobre *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212.

## II. DISEÑO METODOLÓGICO:

### 1 MATERIAL DE ESTUDIO

#### 1.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

Según el periodo en que se capta la información	Según la evolución del fenómeno estudiado	Según la comparación de poblaciones	Según la interferencia del investigador en el estudio
Prospectivo	Longitudinal	Comparativo	Experimental

#### 1.2 ÁREA DE ESTUDIO.

La presente investigación se desarrolló en el laboratorio de investigación científica de la facultad de Medicina Humana de la Universidad Privada Antenor Orrego - La Libertad.

#### 1.3 DEFINICIÓN DE LA POBLACIÓN MUESTRAL.

##### 1.3.1 Características generales:

Placa Petri conteniendo el *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

##### 1.3.1.1

##### Criterios de inclusión:

Placa Petri conteniendo el *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 con los diferentes geles e hidróxido de calcio

### **1.3.1.2 Criterios de exclusión:**

Placa Petri conteniendo el *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y que exista la presencia de otros microorganismos.

### **1.3.1.3 Criterios de eliminación:**

- Placa Petri conteniendo el *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 que durante el estudio se rompa o fracture.
- Placa Petri conteniendo el *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 que no permita su medición.

## **1.3.1 Diseño estadístico de muestreo:**

### **1.3.2.1 Unidad de Análisis:**

Placa Petri conteniendo el *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 con *Aloe vera*, clorhexidina al 2% e hidróxido de calcio.

### **1.3.2.2 Unidad de muestreo:**

Placa Petri conteniendo el *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

### **1.3.2.3 Tamaño muestral:**

El tamaño de muestral para el presente estudio fue:



**Muestra Preliminar:**

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 * 2\sigma_{\delta}^2}{\delta^2}$$

Dónde:

$Z_{\alpha/2} = 1.96$ ; que es un coeficiente de confianza del 95%

$Z_{\beta} = 0.84$ ; que es un coeficiente en la distribución normal para una potencia de prueba del 80%

$$X_1 = 6$$

$$X_2 = 0$$

$$\delta = (X_1 - X_2)$$

$$s^2 = (12)^2 = 144$$

$$N = 18$$

Luego Reemplazando:

$$n = 63$$

**Muestra Final:**

$$n_f = n / (1 + n/N)$$

Luego reemplazando

$$n_f = 14$$

Es decir, se necesitaron 14 unidades experimentales seleccionadas aleatoriamente para cada uno de los grupos de investigación.

**1.3.3 Método de selección**

Muestreo probabilístico aleatorio simple.

## **2. MÉTODOS, TÉCNICAS E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS.**

### **2.1. Método.**

Observación

### **2.2. Descripción del Procedimiento**

#### **A. De la aprobación del proyecto:**

El primer paso para la realización del presente estudio de investigación fue la obtención del permiso para su ejecución, mediante la aprobación del proyecto por parte de la Comisión de Investigación de la Escuela de Estomatología de la Universidad Privada Antenor Orrego.

#### **B. De la autorización para la ejecución:**

Una vez aprobado el proyecto se procedió a solicitar el permiso al director del área de Microbiología de la Universidad Privada Antenor Orrego y se les explicó la importancia de la presente investigación con el fin de obtener los permisos correspondientes para su ejecución.

#### **C. Recolección de la muestra.**

##### **Obtención del gel de *Aloe vera***

El gel de *Aloe vera* fue obtenido directamente de la hoja fresca de la planta, la cual fue adquirida de un jardín de la zona de Víctor Larco Herrera luego se la deshidrató por dos días a 50° C para su posterior determinación taxonómica en el Herbarium truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo.

El procedimiento para obtener el gel de *Aloe vera* fue el siguiente:

- Se cortaron las hojas a 5 cm del tallo y se procederá al lavado con agua corriente.
- Luego, las hojas fueron colocadas en un recipiente con agua y fueron dejadas sumergidas por 24 horas, con la finalidad de evitar la contaminación del gel con la savia en el momento de la extracción.
- Se volvieron a enjuagar las hojas con agua corriente, y se procedió a separar la epidermis del parénquima de la hoja y se extrajo el gel de *Aloe vera* con ligero raspado del parénquima, el gel fue licuado por 2 minutos para obtener una consistencia adecuada para el estudio.

#### **Obtención de la cepa de *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212**

- La bacteria fue obtenida de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo, donde estaba mantenida la cepa.

#### **Preparación de las muestras.**

- Gel de *Aloe vera* + Hidróxido de calcio

Se mezclaron 3 mg de hidróxido de calcio químicamente puro y 3ml del gel de *Aloe vera*.

- Gel de clorhexidina 2% + Hidróxido de calcio

Se mezclaron 3 mg de hidróxido de calcio químicamente puro y 3 ml del gel de clorhexidina 2%.

El polvo de hidróxido de calcio fue pesado en una balanza analítica (Ohaus Mold Adventurer). Los volúmenes de los vehículos fueron calculados utilizando una jeringa descartable de 5ml.

Una vez obtenidas las cantidades de ambas sustancias, fueron colocadas sobre platinas de vidrio y se mesclarán con una espátula para cemento hasta conseguir una consistencia uniforme.

Las pastas fueron preparadas siguiendo la secuencia: primero la pasta Gel de clorhexidina 2% + Hidróxido de calcio químicamente puro y luego Gel de *Aloe vera* + Hidróxido de calcio químicamente puro.

#### **Tiempo de experimentación:**

- Los momentos en que se realizó el conteo de UFC fueron a las 72 horas, 5 días y 7 días y la medida de Halos de inhibición a 1 día.

## **Medición de la Eficacia Antibacteriana.**

- Para la medición de la eficacia antibacteriana, el autor del presente trabajo de investigación siguió un proceso de entrenamiento, siguiendo las recomendaciones de los manuales de los equipos utilizados, y recibiendo la asesoría de un doctor en biomédicas especialista. Se realizó la medición de la eficacia antibacteriana teniendo en cuenta las unidades formadoras de colonias y la medida de halos de inhibición.

- **Procedimiento**

Preparación de la cepa de *Enterococcus faecalis*. La cepa se reactivó sembrándola en agar soya tripticasa e incubándola por 24 horas a 37°C en microanaerobiosis.

- **Evaluación de la eficacia**

Para evaluar la eficacia se sembró la bacteria en tubos con medio caldo tioglicolato combinado en partes iguales con el gel de *Aloe vera*, clorhexidina 2% y sus combinaciones con hidróxido de calcio. Todos los tubos se incubarán a 37°C en microanaerobiosis durante 24 horas.

- **Determinación de las UFC**

De cada tubo se sembró 0,1 mL en 14 placas Petri para cada grupo con agar Mueller Hinton y se expandió la muestra con el asa de Driglasky en todas las placas petri.

Luego se colocaron las placas en las jarra Gaspak y se incubaron a 37°C en microanaerobiosis durante 72 horas, 120 horas y 168 horas.

Luego de cada tiempo de incubación, se procedió a contabilizar las colonias (UFC).

Para lo cual se utilizó un contador de colonias y se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{UFC: } N/4 \times A \times D$$

- **Medida de Halos de Inhibición.**

Se prepararon las placas petri en medio Mueller Hinton sobre las cuales se sembró la bacteria de *Enterococcus Faecalis* en camada, con hisopos estériles embebidos en el cultivo, previamente diluido.

Luego se prepararon discos de papel de filtro estériles, los cuales fueron sumergidos en el gel de *Aloe vera*, clorhexidina 2% y sus combinaciones con hidróxido de calcio por un periodo de una hora. Luego, con una aguja estéril, estos se colocaron sobre los cultivos de *Enterococcus Faecalis* en las

placas Petri previamente preparadas; utilizando 14 repeticiones en 3 placas (de 4 y 4 repeticiones) y 1 placa (de 2 y 2 repeticiones) para cada grupo experimental. Las placas se mantuvieron en la misma posición por un periodo de 5 minutos, luego de este tiempo las placas se voltearon de posición y se incubaron en una jarra Gaspak a 37°C en microanaerobiosis durante 24 horas. Todo el procedimiento se llevó a cabo dentro del diámetro de 10 cm de la llama de un mechero.

La lectura se llevó a cabo a las 24 horas mediante la inspección visual de cada placa. Se efectuó tomando el registro en milímetros de los halos de inhibición del crecimiento de *Enterococcus Faecalis*.

### **2.3. Del instrumento de recolección de datos.**

Se utilizó dos fichas elaboradas para la investigación (Anexo 1 y 2) en donde se colocaron las mediciones respectivas.

**CUADRO DE VARIABLES:**

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL E INDICADORES	CLASIFICACIÓN		ESCALA DE MEDICIÓN
			POR SU NATURALEZA	POR SU FUNCIÓN	
Eficacia antibacteriana	Capacidad del medicamento para producir el efecto antibacteriano esperado. <sup>1</sup>	Recuento de unidades formadoras de colonias:(UFC) <ul style="list-style-type: none"> <li>• 72 horas</li> <li>• 5 días</li> <li>• 7 días</li> </ul>	Numérica	Dependiente	De razón
		Halos de Inhibición (mm)	Numérica	Dependiente	De razón
Medicamento intraconducto	Medicamento que es utilizado para el tratamiento de conductos infectados, logrando efectos terapéuticos y no sistémicos. <sup>28</sup>	Tipo de medicamento administrado: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Gel de <i>Aloe vera</i>.</li> <li>• Gel de clorhexidina al 2%</li> <li>• <i>Aloe vera</i> + hidróxido de calcio</li> <li>• Gel de clorhexidina al 2% + Hidróxido de calcio</li> </ul>	Categorica	Independiente	Nominal



#### **2.4. Análisis estadístico de la información:**

Para la presente investigación se utilizó las tablas de resumen de indicadores, así como, gráficos adecuados para presentar los resultados de la investigación.

Se utilizó el análisis de varianza para un diseño completamente al azar y la prueba de comparaciones múltiples de Duncan, ambas pruebas estadísticas considerando un nivel de significancia de 0.05. Se contó con el apoyo de una hoja de cálculo de Microsoft Excel y el programa statistica v 10

## A. RESULTADOS

El presente estudio tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano in vitro del gel de *Aloe barbadensis* (Aloe Vera), gel de clorhexidina al 2% y sus respectivas combinaciones con Hidróxido de calcio (CaOH) sobre *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212. Se utilizaron 14 repeticiones de cada medicamento y combinación para definir el efecto antibacteriano para el cual se analizó en dos procesos: mediante la medida de halos de inhibición en un solo tiempo y el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) durante 3, 5 y 7 días.

El gel de *Aloe barbadensis* (Aloe Vera) no presentó efecto antibacteriano in vitro sobre *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 habiéndose expresado a través de la medida en mm de halos de inhibición y el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) aumentando la colonización en los 3,5 y 7 días de conteo, y la combinación del gel de Aloe Vera e Hidróxido de calcio (CaOH) presentó una leve eficacia expresado a través de la medida en mm de halos de inhibición, totalmente distinto en el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) que representa la nula eficacia frente a *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 en los 3 tiempos de conteo; por otra parte, el gel de Clorhexidina al 2% solo y en su combinación con hidróxido de calcio (CaOH) presentaron efecto antibacteriano in vitro frente a *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 habiéndose expresado a través de la medida en mm de halos de inhibición y el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) no presentando colonias en los tres tiempos de conteo.

En el recuento de unidades formadoras de colonias los resultados fueron casi similares, en el caso del gel de Clorhexidina al 2% sólo y en su combinación con hidróxido de calcio presentaron 0.000 el número de colonias en 3, 5 y 7 días en ambos, siendo eficaz frente a *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212, caso contrario al gel de Aloe Vera sólo, el cual tuvo como conteo un promedio de 4550 a los 3 días, 4836 a los 5 días y 5529 colonias por placa Petri a los 7 días y el Aloe Vera en su combinación con el hidróxido de calcio teniendo un campo cubierto de colonias promediando  $10^9$  colonias el conteo en los tres tiempos de investigación, demostrando su ineficacia antibacteriana frente a *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212. (Tabla N°1,4 y 7).

Realizando el análisis de varianza se obtuvo una diferencia estadística significativa ( $p = .000$ ) por lo que se procedió a realizar la prueba de Duncan que nos brindan las diferencias de los grupos experimentales los cuales fueron representados en tres grupos, gel de Clorhexidina 2% puro y combinado con Hidróxido de Calcio (G1) presentaron los mismos resultados de alta eficacia antibacteriana a comparación del gel de Aloe Vera puro (G2) y su combinación con Hidróxido de Calcio (G3) que fueron ineficaces sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (Tabla N° 2 y 3; 5 y 6; 8 y 9)

En la prueba de halos de inhibición, se encontró que *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 fue sensible al gel de Clorhexidina al 2% teniendo como promedio de medida de halo de 24.500 mm y su combinación con hidróxido de calcio 11.143 mm, el gel de Aloe Vera combinado con hidróxido de calcio obtuvo un promedio de medida de halo de 11.214 mm, sin embargo el gel de Aloe Vera sólo, no generó sensibilidad con un promedio de medida de halo de 3.0 mm. (Tabla N° 10).

Realizando el análisis de varianza se obtuvo una diferencia estadística significativa ( $p = .000$ ) por lo que se procedió a realizar la prueba de Duncan que nos brindan las diferencias de los grupos experimentales los cuales fueron representados en tres grupos, gel de Clorhexidina 2% puro (G3) con la mayor medida de halo de inhibición, su combinación con Hidróxido de Calcio y la combinación del gel de Aloe Vera e Hidróxido de calcio que fueron representados en un solo grupo (G2) ya que brindaban similares promedio de medida de halos y por último el gel de Aloe Vera puro (G3) que representó el menor promedio de medida de halos de inhibición. (Tabla N° 11 y 12)

**Tabla N°1****Resumen Descriptivo de Unidades Formadoras de Colonias según Grupos de Investigación a los 3 días**

Grupo de Investigación	ni	Promedio	Desv. Est.
Gel Aloe Vera	14	4.550	0.6454
Gel Clorhexidina 2%	14	0.000	0.0000
Gel Aloe Vera + Hidroxido de calcio	14	100000.000	0.0000
Gel de Clorhexidina 2% + Hidroxido de calcio	14	0.000	0.0000

**Tabla N°2****Análisis de Varianza para Evaluar La Eficacia Antibacteriana in vitro del Gel Natural de Aloe Barbadensis, Clorhexidina 2% e Hidroxido de Calcio sobre Enterococcus Faecalis ATCC 29212 a los 3 días**

F.V.	SC	gl	CM	Fo	P
Entre grupos	104996815217.4	3	34998938405.8	336093221994.7	0.000
Dentro de grupos	5.415	52	.104		
Total	104996815222.8	55			

**Tabla N°3****Prueba de Duncan para Determinar Diferencias Significativas entre Promedios de UFC de los Grupos Experimentales: Gel Natural de Aloe Barbadensis, Clorhexidina 2% e Hidróxido de Calcio sobre Enterococcus Faecalis ATCC 29212 a los 3 días**

Grupo de Investigación	ni	Grupos para alfa = 0.05		
		G1	G2	G3
Gel Clorhexidina 2%	14	0.000		
Gel de Clorhexidina 2% + Hidroxido de calcio	14	0.000		
Gel Aloe Vera	14		4.550	
Gel Aloe Vera + Hidroxido de calcio	14			100000.000

**Tabla N°4****Resumen Descriptivo de Unidades Formadoras de Colonias según Grupos de Investigación a los 5 días**

Grupo de Investigación	ni	Promedio	Desv. Est.
Gel Aloe Vera	14	4.836	0.5017
Gel Clorhexidina 2%	14	0.000	0.0000
Gel Aloe Vera + Hidroxido de calcio	14	100000.000	0.0000
Gel de Clorhexidina 2% + Hidroxido de calcio	14	0.000	0.0000

**Tabla N°5****Análisis de Varianza para Evaluar La Eficacia Antibacteriana in vitro del Gel Natural de Aloe Barbadensis, Clorhexidina 2% e Hidroxido de Calcio sobre Enterococcus Faecalis ATCC 29212 a los 5 días**

F.V.	SC	gl	CM	Fo	P
Entre grupos	104996615245.533	3	34998871748.511	556192504538.661	0.000
Dentro de grupos	3.272	52	0.063		
Total	104996615248.806	55			

**Tabla N°6****Prueba de Duncan para Determinar Diferencias Significativas entre Promedios de UFC de los Grupos Experimentales: Gel Natural de Aloe Barbadensis, Clorhexidina 2% e Hidróxido de Calcio sobre Enterococcus Faecalis ATCC 29212 a los 5 días**

Grupo de Investigación	ni	Grupos para alfa = 0.05		
		G1	G2	G3
Gel Clorhexidina 2%	14	0.000		
Gel de Clorhexidina 2% + Hidroxido de calcio	14	0.000		
Gel Aloe Vera	14		4.836	
Gel Aloe Vera + Hidroxido de calcio	14			100000.000

**Tabla N°7****Resumen Descriptivo de Unidades Formadoras de Colonias según Grupos de Investigación a los 7 días**

Grupo de Investigación	ni	Promedio	Desv. Est.
Gel Aloe Vera	14	5.529	0.5622
Gel Clorhexidina 2%	14	0.000	0.0000
Gel Aloe Vera + Hidroxido de calcio	14	100000.000	0.0000
Gel de Clorhexidina 2% + Hidroxido de calcio	14	0.000	0.0000

**Tabla N°8****Análisis de Varianza para Evaluar La Eficacia Antibacteriana in vitro del Gel Natural de Aloe Barbadensis, Clorhexidina 2% e Hidróxido de Calcio sobre Enterococcus Faecalis ATCC 29212 a los 7 días**

F.V.	SC	gl	CM	Fo	P
Entre grupos	104996130320.934	3	34998710106.978	442960030561.194	0.000
Dentro de grupos	4.109	52	0.079		
Total	104996130325.042	55			

**Tabla N°9****Prueba de Duncan para Determinar Diferencias Significativas entre Promedios de UFC de los Grupos Experimentales: Gel Natural de Aloe Barbadensis, Clorhexidina 2% e Hidróxido de Calcio sobre Enterococcus Faecalis ATCC 29212 a los 7 días**

Grupo de Investigación	ni	Grupos para alfa = 0.05		
		G1	G2	G3
Gel Clorhexidina 2%	14	0.000		
Gel de Clorhexidina 2% + Hidroxido de calcio	14	0.000		
Gel Aloe Vera	14		5.529	
Gel Aloe Vera + Hidroxido de calcio	14			100000.000

**Tabla N°10****Resumen Descriptivo de Halo de Inhibición según Grupos de Investigación**

Grupo de Investigación	ni	Promedio	Desv. Est.
Clorhexidina 2%	14	24.500	1.6984
Aloe Vera	14	3.000	0.0000
Aloe Vera + Hidroxido de calcio	14	11.214	1.0509
Clorhexidina 2% + Hidroxido de calcio	14	11.143	1.9945

**Tabla N°11****Análisis de Varianza para Evaluar La Eficacia Antibacteriana in vitro del Gel Natural de Aloe Barbadensis, Clorhexidina 2% e Hidróxido de Calcio sobre Enterococcus Faecalis ATCC 29212.**

F.V.	SC	gl	CM	Fo	P
Entre grupos	3328.357	3	1109.452	557.022	0.000
Dentro de grupos	103.571	52	1.992		
Total	3431.929	55			

**Tabla N°12****Prueba de Duncan para Determinar Diferencias Significativas entre Promedios de Halo de Inhibición de los Grupos Experimentales: Gel Natural de Aloe Barbadensis, Clorhexidina 2% e Hidróxido de Calcio sobre Enterococcus Faecalis ATCC 29212.**

Grupo de Investigación	ni	Grupos para alfa = 0.05		
		G1	G2	G3
Aloe Vera	14	3.000		
Clorhexidina 2% + Hidroxido de calcio	14		11.143	
Aloe Vera + Hidroxido de calcio	14		11.214	
Clorhexidina 2%	14			24.500



## B. DISCUSIÓN

En la presente investigación se buscó determinar si el gel de *Aloe Barbadensis* (Aloe Vera), el gel de Clorhexidina al 2% y sus respectivas combinaciones con Hidróxido de Calcio (CaOH) presentaban efecto antibacteriano *in vitro* sobre *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212., lo cual quedó demostrado, la existencia de un efecto de inhibición de desarrollo bacteriano por parte del gel de Clorhexidina al 2% sólo y en su combinación con hidróxido de calcio.

En cuanto al gel de Aloe Vera puro y su combinación con hidróxido de calcio no presentaron eficacia antibacteriana considerable y al pasar los días, disminuía totalmente la eficacia; además se encontró que hay diferencia significativa (según análisis estadísticos) con respecto al recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) y la medida en mm de halos de inhibición en los distintos geles y sus combinaciones.

En el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) se demostró cómo los geles y sus combinaciones con hidróxido de calcio estudiadas son capaces de destruir un inóculo de  $10^5$  bacterias por ml de medio de cultivo, tras 3, 5 y 7 días de incubación y su eliminación.

El gel de Clorhexidina al 2% puro y su combinación con hidróxido de calcio destruye el 100 % de los microorganismos viables, inhibiendo así el crecimiento de colonias, dando como resultado la efectividad en su totalidad, esto podría deberse a que ocasiona la disrupción de la membrana de la bacteria y a su alto poder frente a una bacteria gram positiva; por el contrario el gel de Aloe Vera puro desarrolló colonias y

promovió el crecimiento bacteriano con el transcurso de los tres tiempos estudiados, asimismo, su combinación con hidróxido de calcio desde el tercer día de conteo presento un tamaño de  $10^9$  el número de colonias en los tres tiempos de conteo, ratificando su ineficacia frente a la eliminación de *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 y promoviendo aún más su crecimiento.

En lo que respecta a su resistencia se verifica a través de los halos de inhibición; se demostró el impedimento del crecimiento de *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212, determinado por el halo que se forma alrededor de los discos. Este halo de inhibición indica que no hay crecimiento bacteriano; a mayor tamaño de halo mayor sensibilidad. La resistencia consiste en que el *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 se desarrolle sin que los geles de Aloe Vera, Clorhexidina al 2% puro y en sus combinaciones con el hidróxido de calcio impidan su crecimiento.

En la presente investigación, se determinó la eficacia y resistencia utilizando el medio agar Müeller hinton para determinar el efecto bactericida del gel de *Aloe Barbadensis* (Aloe Vera), gel de Clorhexidina 2%, gel de Aloe Vera más Hidróxido de Calcio (CaOH) y gel de Clorhexidina 2% más Hidróxido de Calcio  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  en placas Petri. Los resultados se determinaron a través del sistema de halos de inhibición, siendo la bacteria muy sensible al gel de Clorhexidina 2% puro, mientras que una sensibilidad un poco menor al gel de Aloe Vera combinado con Hidróxido de Calcio así como al gel de Clorhexidina 2% combinado con Hidróxido de Calcio y por último totalmente resistente al gel de Aloe Vera puro.

No se encontró estudios previos para comprobar la eficacia del gel de *Aloe Barbadensis* (Aloe Vera) combinado con hidróxido de calcio frente al *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212. Sin embargo Kaithwas<sup>27</sup> realizó un estudio donde obtuvo poder antimicrobiano de jugo de aloe vera sobre *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 y Bhardwaj<sup>4</sup> realizó un estudio con gel de *Aloe Barbadensis* (Aloe Vera) obteniendo de igual forma poder antimicrobiano sobre *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 lo que difiere a lo demostrado en el presente estudio, debiéndose quizá al diferente medio de cultivo utilizado (Agar slant stock), además de la diferente presentación del Aloe Vera como jugo pero disuelto en glicol de etileno en el estudio de Kaithwas<sup>27</sup> mientras que se utilizaron bloques de dentina con caldo de Agar TS en el estudio de Bhardwaj<sup>4</sup> teniendo una diferente metodología de investigación lo cual pudo haber influido en los resultados.

Por otro lado se encontraron estudios previos comprobando la eficacia del gel de Clorhexidina 2% como lo hace referencia, Dakshita<sup>22</sup>, Valera<sup>25</sup> y Bhardwaj<sup>4</sup> quienes demostraron el alto poder antibacteriano del gel sobre *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 concordando con el presente estudio, además, Gomes<sup>16</sup> realizó un estudio previo evaluando el gel de Clorhexidina 2% puro y en combinación con Hidróxido de Calcio obteniendo efectividad antibacteriana sobre *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 resultado similar al de esta investigación.

Esto puede deberse a la actividad antimicrobiana de amplio espectro dirigida tanto a microbios gram-positivos y gram-negativos como es el caso de *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212.

La fitoterapia está ganando mayor importancia dentro de la Odontología y el determinar que el gel de Aloe Vera combinado al hidróxido de calcio genera un ligero efecto inhibitorio frente a *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 constituye una base para futuras investigaciones, mediante diferentes medios de cultivo y concentraciones del gel.

## C. CONCLUSIONES

- A.** El gel de *Aloe barbadensis* (Aloe Vera) y su combinación con hidróxido de calcio no presentaron efecto antibacteriano frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 según el conteo de UFC a los 3, 5 y 7 días de estudio y la medida de halos de inhibición y el gel de Clorhexidina 2% y su combinación con hidróxido de calcio si presentaron efecto antibacteriano sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 según el conteo de UFC a los 3, 5 y 7 días de estudio y a la medida de halos de inhibición
- B.** El gel de *Aloe barbadensis* (Aloe Vera) puro y su combinación con Hidróxido de Calcio no presentaron efecto antibacteriano contrario al gel de Clorhexidina 2% puro y su combinación con Hidróxido de Calcio que si presentaron efecto antibacteriano in vitro frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 según el conteo de UFC a los 3, 5 y 7 días.
- C.** El gel de Clorhexidina 2% puro y combinado con Hidróxido de Calcio presentaron la misma eficacia a comparación del gel de Aloe Vera puro y combinado con Hidróxido de Calcio que no presentaron eficacia antibacteriana in vitro frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 según el conteo de UFC a los 3, 5 y 7 días.

- D. El gel de *Aloe barbadensis* (Aloe Vera) puro no generó sensibilidad antibacteriana contrario a su combinación con Hidróxido de Calcio, el gel de Clorhexidina 2% puro y su combinación con Hidróxido de Calcio que si generaron sensibilidad antibacteriana in vitro frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 según la medida de halos de inhibición.
- E. El gel de Clorhexidina 2% puro generó la mayor sensibilidad antibacteriana seguido por el gel de *Aloe barbadensis* (Aloe Vera) combinado con Hidróxido de Calcio y el gel de Clorhexidina 2% combinado con Hidróxido de Calcio que generaron similar sensibilidad antibacteriana y por último el gel de Aloe Vera puro que no generó sensibilidad antibacteriana in vitro frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 según la medida de halos de inhibición.

## 7. RECOMENDACIONES

- Continuar con las investigaciones de productos antibacterianos presentes en diversas plantas, con la finalidad de promover la búsqueda de tratamientos a partir de productos naturales y así crear protocolos clínicos para su empleo.
- Realizar estudios *in vitro* usando gel de *Aloe Barbadensis* (Aloe Vera), frente a otros microorganismos colonizadores de la cavidad oral, mediante otros medios de cultivo, concentraciones y métodos de producción del gel.
- Realizar combinaciones con otras plantas, que presenten propiedades antibacterianas, para buscar mayor efecto frente a microorganismos de interés estomatológico.

## **BIBLIOGRAFIA:**

- 1) Baldwin W. Capacidad antibacteriana de diferentes selladores endodónticos frente al enterococcus faecalis. Estudio in vitro [Tesis para título de C.D]. Lima: USMP ; 2007
- 2) Dawson J, Moreno A, Taylor M, Reide P. Lo esencial en farmacología. 2<sup>da</sup> ed. Madrid: Elsevier; 2003
- 3) Sureshchandra B. Endodontology. Vol 23. Mangalore(India): Indian Endodontic Society; 2011.
- 4) Bhardwaj A, Ballal S, Velmurugan N. Comparative evaluation of the antimicrobial activity of natural extracts of Morinda citrifolia, papain and aloe vera (all in gel formulation), 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide, against Enterococcus faecalis: An in vitro study. J Conserv Dent. 2012; (12): 293-297.
- 5) Schweizer M. *Aloe vera*: la planta que cura. Vol 1. Paris: A P B; 1995
- 6) Boudreau M, Beland F. An Evaluation of the Biological and Toxicological Properties of *Aloe Barbadensis* (Miller), Aloe Vera. J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev. 2006; 24 (1): 103-154
- 7) Tai-Nin J, Williamson D, Yates K, Goux W. Chemical characterization of the immunomodulating polysaccharide of *Aloe Vera* L. Carbohydr Res. 2005; 340(6): 1131-1142
- 8) Agarry O, Olaleye M, Bello C. Comparative antimicrobial activities of *Aloe Vera* gel and leaf. African Journal of Biotechnology. 2005; 4(12): 1413-1414
- 9) Ferro V, Bradbury F, Cameron P, Shakir E, Rahman S, Stimson W. *In vitro* susceptibilities of *Shigella Flexneri* and *Streptococcus Pyogenes* to inner gel of *Aloe Barbadensis* Millier. Antimicrob Agents Chemother. 2003; 47(3): 1137-1139
- 10) Reynolds T, Dweck A. Aloe vera leaf gel: a review update. J of Ethnopharmacol. 1999; (68):3-37
- 11) Ali M. Shalaby N, Elgamal M, Mousa A. Antifungal effects of different plant extracts and their major components of selected aloe species. Phytother Res. 1999; (13): 401-407



- 12) Stuart R, Leftkowitz D, Lincoln J, Howard K, Gelderman M, Lefkowitz S. Upregulation of phagocytosis and candidicidal activity of macrophages exposed to the immunostimulant aceman. *Int J Immunopharmacol.* 1997; (19): 75-82
- 13) Randi F, Figueredo G, Zaia A, Teixeira F, Souza F. In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. *J Endodon.* 2001; 27(7): 452-455.
- 14) Leonardo M, Filho M, Silva L, Filho N, Bonifacio K, Ito I. In vivo antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigating solution. *J Endodon.* 1999; 25(3): 167-171
- 15) Lenet B, Komorowski R, Wu X, Huang J, Grad H, Lawrence HP et al. Antimicrobial substantivity of bovine root denton exposed to different chlorhexidine delivery vehicles. *J Endodon.* 2000; 26(11): 652-655.
- 16) Gomes B, Souza S, Ferraz C, Teixeira F, Zaia A, Valdrighi L et al. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine in vitro. *Int Endod J.* 2003; (36): 267-275.
- 17) Gomes B, Ferraz R, Berber V, Vianna M, Teixeira F, Souza-Filho F. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J.* 2001; (34): 424-428.
- 18) Mohammadi Z, Shalavi S, Yazdizadeh M. Antimicrobial Activity of Calcium Hydroxide in Endodontics: A Review. *Chonnam Med J.* 2012 December; 48(3): 133-140.
- 19) Martínez L. Evaluación in vitro de la actividad antimicrobiana del hidróxido de calcio en dos preparaciones en presencia del enterococo faecalis. [Tesis para especialidad en Endodoncia]. Bucaramanga: *U. Santo Tomás* ; 2003
- 20) Pardi G, Guilarte C, Cardozo E, Briceño E. Detección de enterococcus faecalis en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico. *Acta odontol Venez.* 2009; 47(1):157-241
- 21) Figueiredo B, Randi C, Vianna M, Rosalen P, Zaia A, Teixeira F et cols. Atividade antimicrobiana in vitro das pastas de hidróxido de cálcio e seus veículos sobre microrganismos específicos. *Braz Dent J.* 2012; 13(3):168-357
- 22) Dakshita J, Deivanayagam K, Nagendrababu V, Narasimman J, and Arathi G. Disinfection of dentinal tubules with two different formulations of calcium hydroxide as compared to 2% chlorhexidine: As intracanal medicaments against

- Enterococcus faecalis and Candida albicans: An in vitro study. J Conserv Dent. 2011; 14(2): 182–186.
- 23) Lalitha D, Srinivas B, Narasinga B. An evaluation Antimicrobial Activity of Aloe barbadensis Miller (Aloe vera) Gel Extract. JPBMS. 2012; 21(03):203-324
- 24) Roberti L, Lemos G, Pires F, Consani S. Antimicrobial activity of a calcium hydroxide and Ricinus communis oil paste against microorganisms commonly found in endodontic infections. Rev odonto ciênc. 2009;24(4):406-409
- 25) Valera M, Maekawa L, Oliveira L , Jorge A, Shygei E, Carvalho C. In vitro antimicrobial activity of auxiliary chemical substances and natural extracts on Candida albicans and Enterococcus faecalis in root Canals. J Appl Oral Sci. 2013;21(2):118-23
- 26) Renisheya T, Johnson M, Nancy S, Laju R S, Anupriya G, Renola E. Anti-bacterial and antifungal activity of aloe vera gel extract. Ijbar. 2012; 03(03): 184-187
- 27) Kaithwas G, Kumar A, Pandey H, Acharya A, Singh M, Bhatia D et cols. Investigation of comparative antimicrobial activity of aloe vera gel and juice. Pharmacologyonline. 2008; (1): 239-243
- 28) Forty J. Hidróxido de Calcio como medicamento intraconducto en piezas con pulpa necrótica. [Tesis para título de C.D]. Guayaquil: Univ. de Guayaquil; 2012

# ANEXOS

**ANEXO 1**

<b>MUESTR A</b>	<b>Gel de <i>Aloe Vera</i>(UFC)</b>			<b>Gel de Clorhexidina 2% (UFC)</b>			<b>Gel de <i>Aloe Vera</i> + Hidróxido de calcio (UFC)</b>			<b>Gel de Clorhexidina 2% + Hidróxido de calcio (UFC)</b>		
	3 días	5 días	7 días	3 días	5 días	7 días	3 días	5 días	7 días	3 días	5 días	7 días
01												
02												
03												
04												
05												
06												
07												
08												
09												
10												
11												
12												
13												
14												

**ANEXO 2**

<b>MUESTR A</b>	<b>Gel de <i>Aloe Vera</i> medida medida (halos de Inhibición)</b>	<b>Gel de Clorhexidina 2% medida (halos de Inhibición)</b>	<b>Gel de <i>Aloe Vera</i> + Hidróxido de calcio medida (halos de Inhibición)</b>	<b>Gel de Clorhexidina 2% + Hidróxido de calcio medida (halos de Inhibición)</b>
	24 horas	24 hora s	24 hora s	24 hora s
01				
02				
03				
04				
05				
06				
07				
08				
09				
10				
11				
12				
13				
14				



**Fig. 1**

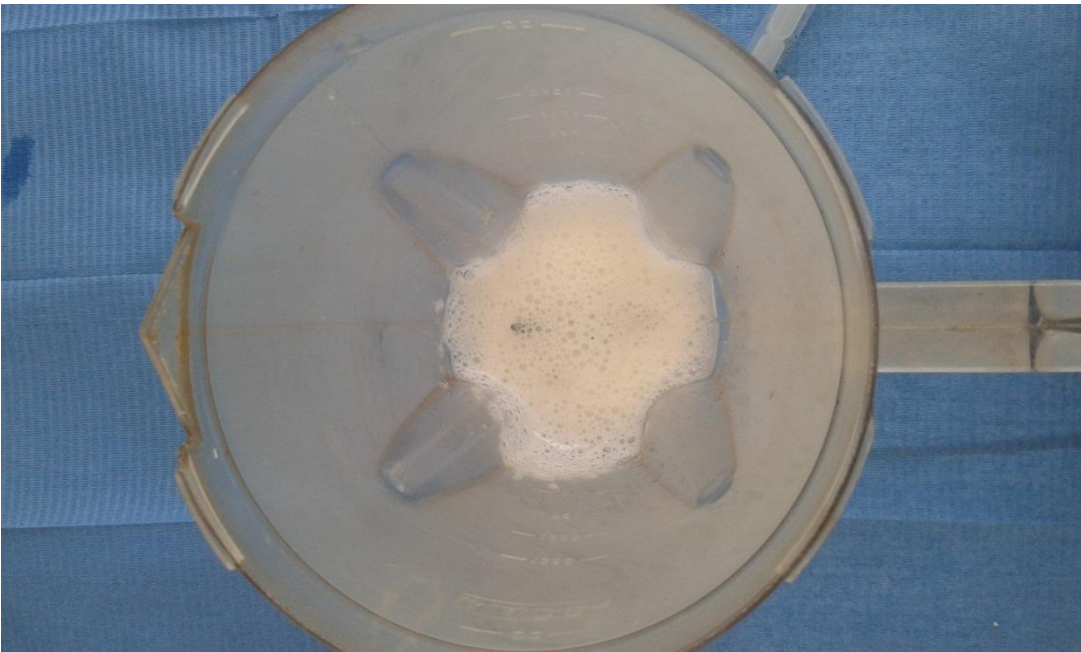


**Fig. 2**

*Aloe Barbadensis (Aloe Vera)* determinada taxonómicamente, codificada e ingresada al Herbarium truxillense.



**Fig. 3**

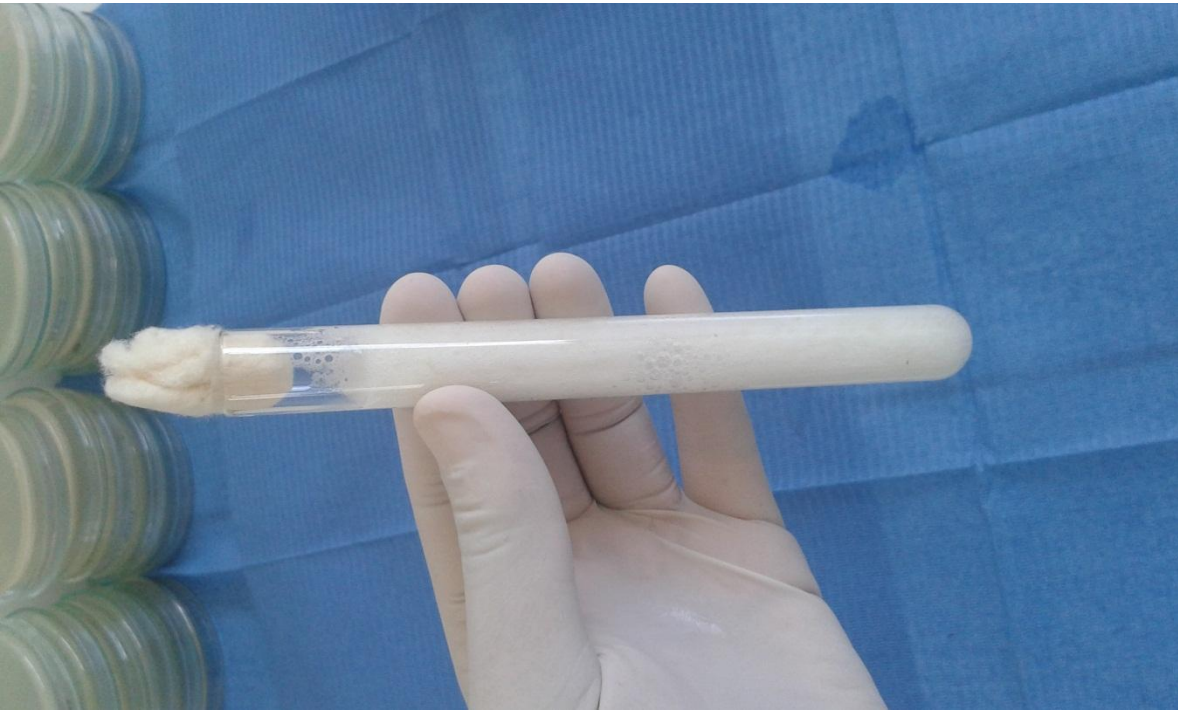


**Fig. 4**

Procesamiento del gel de Aloe Vera.



**Fig. 5**



**Fig. 6**

Obtención del gel de Aloe Vera.





**Fig. 7**



**Fig. 8**

Gel de Clorhexidina al 2% e Hidróxido de calcio.



**Fig. 9**



**Fig. 10**



**Fig. 11**

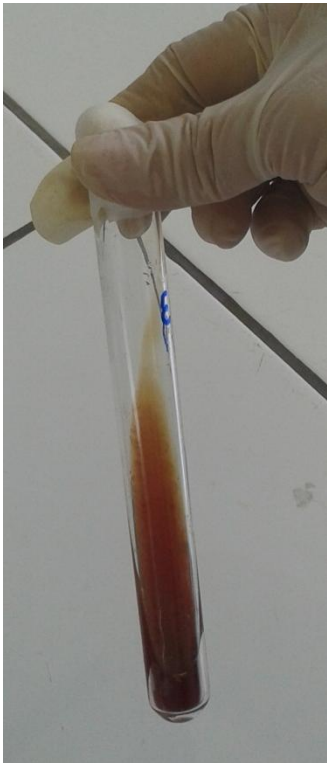
Grupos de estudio en sus respectivos tubos de ensayo.



**Fig. 12**



**Fig. 13**



**Fig. 14**



**Fig. 15**



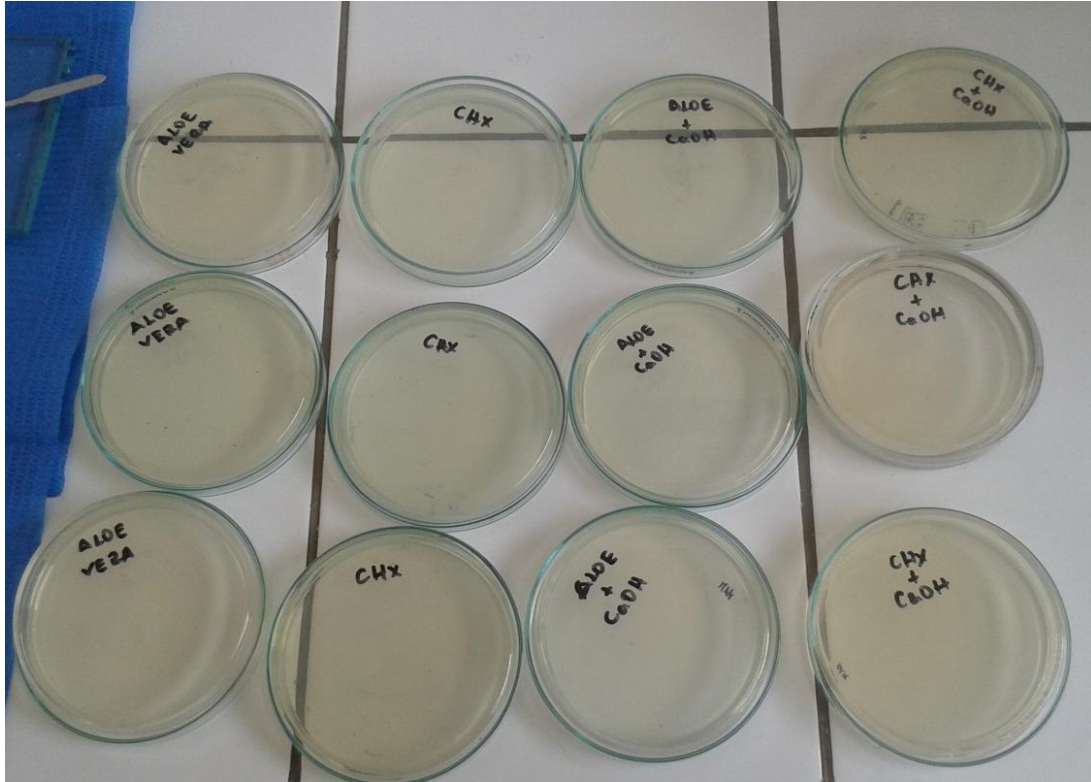
**Fig. 16**

Preparación de la cepa de *Enterococcus faecalis*.



**Fig. 17**

Cepa de *Enterococcus Faecalis* reactivada.



**Fig. 18**

Placas Petri con agar Mueller Hilton

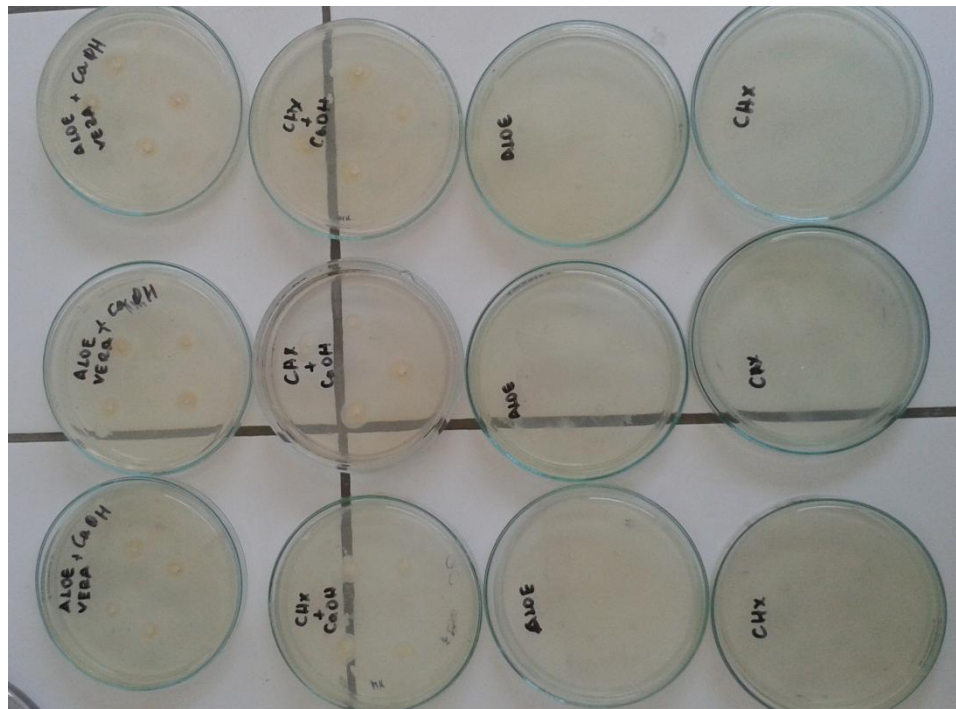


**Fig. 19**

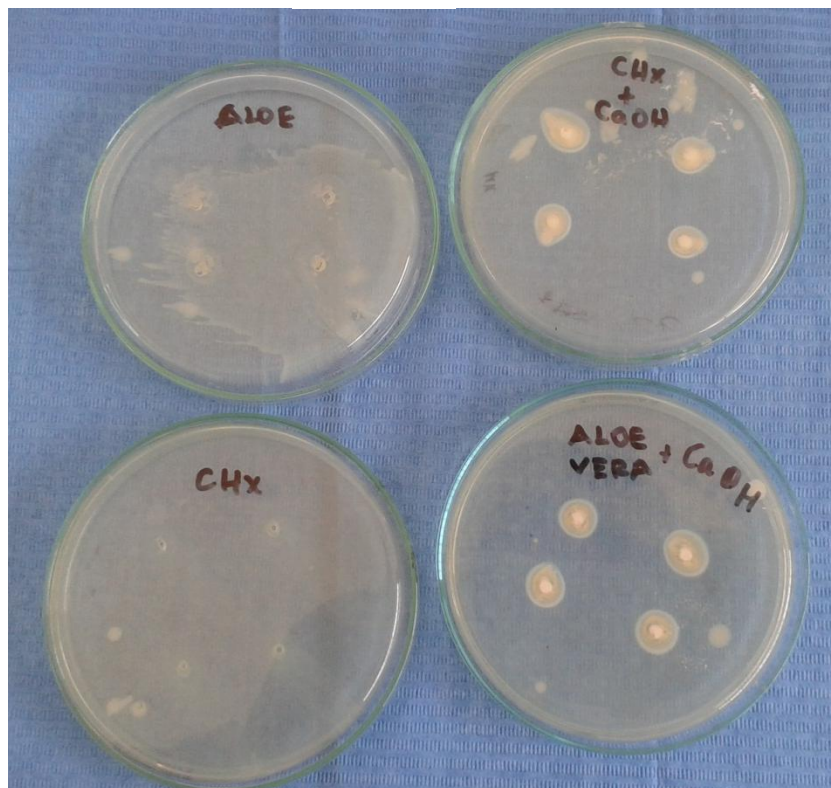


**Fig. 20**

Cepa sembrada en placas Petri correspondientes a la medida de Halos de inhibición.



**Fig. 21**



**Fig. 22**

Halos de inhibición desarrollados.



**Fig. 23**

Medida de halos de inhibición en (mm)





**Fig. 24**



**Fig. 25**



**Fig. 26**

Bacterias sembradas en cada grupo de estudio incubadas.



**Fig. 27**



**Fig. 28**

0.1 ml de cada grupo con la bacteria sembrada posteriormente expandida con el asa de Driglasky en todas las placas Petri correspondientes al conteo de UFC.



Fig. 29

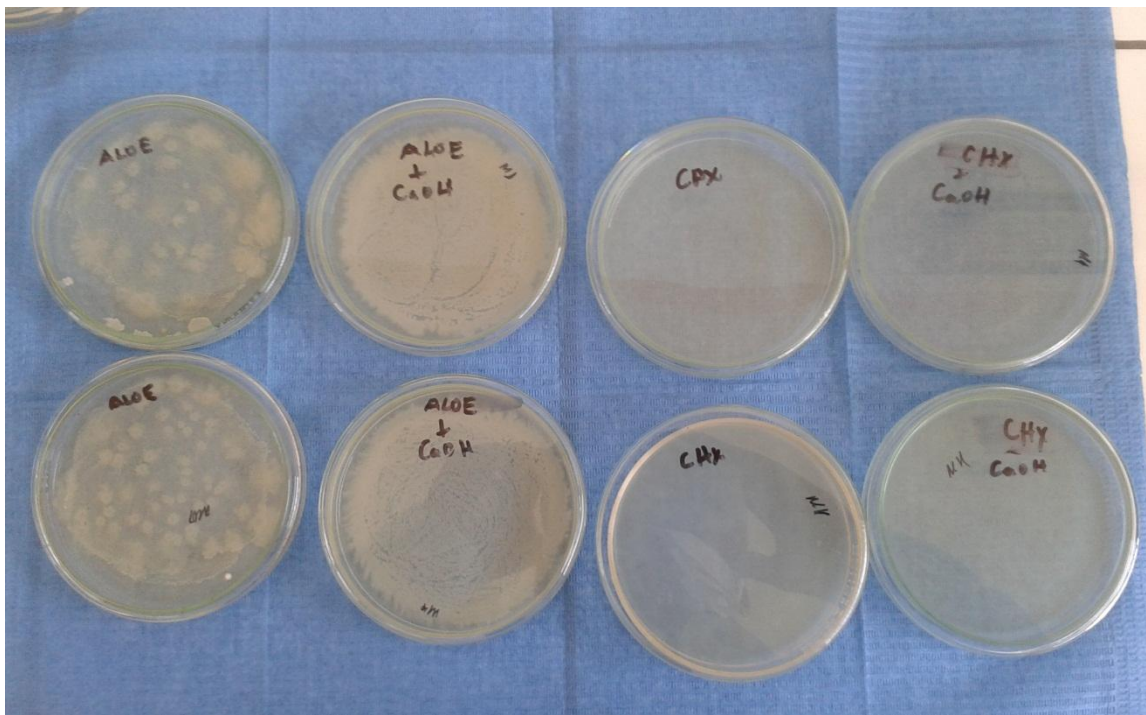
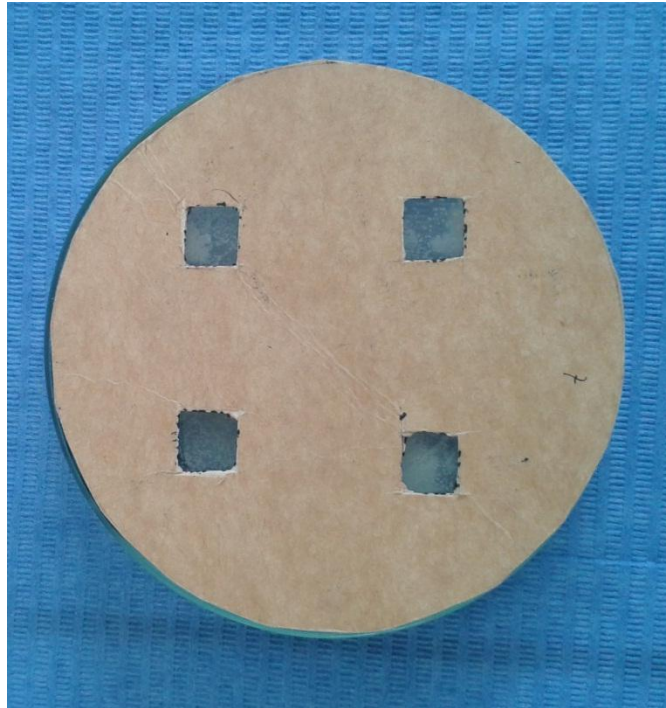


Fig. 30

Placas Petri luego de incubación por 3 días.



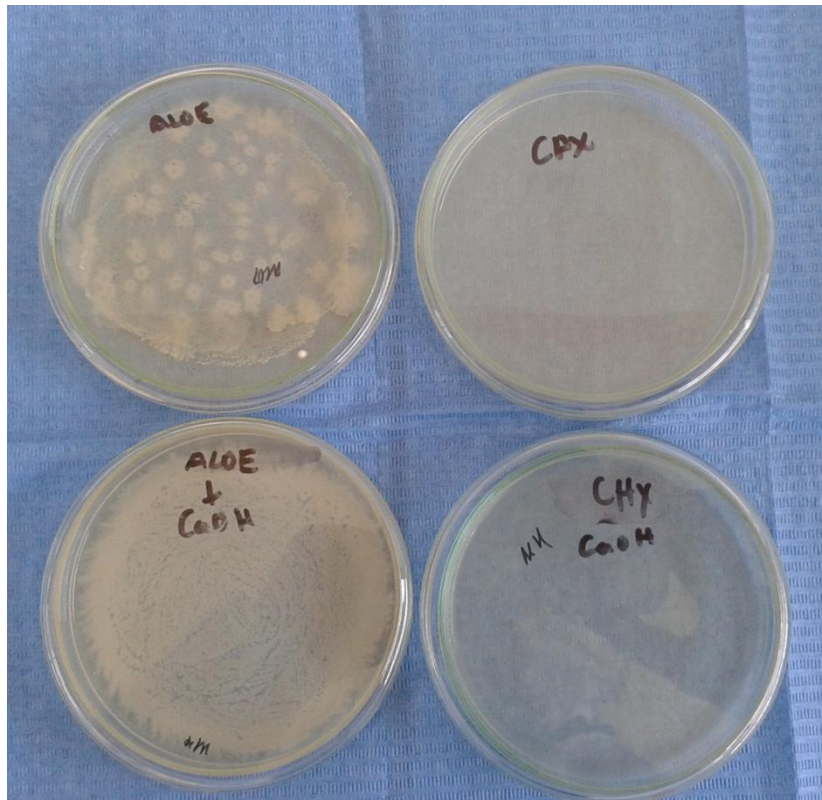
**Fig. 31**

Contador de colonias bacterianas.



**Fig. 32**

Incubación luego del conteo



**Fig. 33**

Placas Petri a 5 días de incubación



**Fig. 34**

Placas Petri a 7 días de incubación