

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA, León

AREA DEL CONOCIMIENTO DE ODONTOLOGÍA

ESPECIALIDAD DE ENDODONCIA



Tesis para optar al título de Especialista en Endodoncia

Evaluación del efecto antimicrobiano de la concentración y tiempo de aplicación de
Clorhexidina sobre conos de gutapercha de uso endodóntico

Autor:

Lic. Luis Alfredo Marín Gutiérrez

Tutora:

Esp. Karen Badilla.

León, 07 Octubre del 2024

2024: 45/19 ¡La Patria, La Revolución!

Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar el grado de desinfección de los conos de gutapercha previamente contaminados con 2ml de saliva humana, utilizando clorhexidina al 2% en 2 intervalos de tiempo (15 y 30 segundos). Se utilizaron 40 conos de gutapercha que fueron contaminados con saliva humana, se sumergieron en clorhexidina al 2% durante 15 y 30 segundos fueron sometidos a agitación en vortex y posteriormente se tomaron 10 microlitros para ser cultivados en agar sangre y agar MacConkey durante 72 horas a temperatura de 37 grados. En ninguno de los 2 tipos de cultivos utilizados en cada intervalo de tiempo se encontraron UFC. Ambos intervalos de tiempo presentaron resultados satisfactorios. No hubo diferencias significativas en los intervalos de tiempo utilizados. Por lo tanto, según los resultados de esta investigación, los 2 intervalos de tiempo con esta concentración de clorhexidina son recomendables para desinfectar los conos de gutapercha.

Palabras Clave: Clorhexidina 2%, Saliva, desinfección

Dedicatoria

A Dios por que sin él no hubiera sido posible haber culminado la especialidad de Endodoncia

A mi Padres, **Mayling Gutiérrez de Marín y Julio Rene Marín López (Q.P.D)** por ser mi apoyo incondicional y estar siempre junto conmigo en todos los proyectos y adversidades que se me han presentado en el camino.

A mi Esposa, **Miriam Palacios** quien siempre estuvo para mi apoyándome durante este proceso investigativo.

Agradecimientos

En primer lugar, le agradezco **a Dios** por permitirme culminar mis estudios de especialidad.

A la **Dra. Karen Badilla y Dr. Leonardo Mendoza** por haberme brindado siempre su asesoría durante todo el proceso de investigativo

Al **Dr. Pichardo** por apoyarme en mi proceso de culminación de estudios

Al licenciado, **Eugenio Pacheco** y a su residente **Jheyson Castillo Chow** quienes me apoyaron en el proceso microbiológico de este estudio

Índice

I.	Introducción	1
II.	Objetivos	3
2.1	Objetivo General	3
2.2	Objetivos Específicos	3
III.	Marco teórico	4
3.1	Gutapercha. Generalidades	4
3.1.2	Historia de la Gutapercha	4
3.1.3	Uso de la Gutapercha en Endodoncia	4
3.1.4	Fases físicas de la Gutapercha	5
3.1.5	Composición de la Gutapercha	5
3.1.6	Propiedades físicas de la Gutapercha	6
3.2	Clorhexidina	8
3.2.1	Historia	8
3.2.2	Estructura química	8
3.2.3	Almacenamiento	8
3.2.4	Mecanismo de acción	9
3.2.5	Efecto antibacteriano	9
3.2.6	Sustantividad de la clorhexidina	9
3.2.7	Uso de la clorhexidina en endodoncia	9
3.2.8	Interacción de la Clorhexidina con irrigantes endodónticos	11
3.3	Estudios Previos	13
IV.	Diseño Metodológico	15
A.	Tipo de Estudio	15
B.	Área de Estudio	15
C.	Población de Estudio	15
D.	Muestra	15
E.	Método de muestreo	15
F.	Unidad de análisis	15
G.	Criterio de inclusión	15
H.	Criterio de exclusión	16

I. Procedimiento de Recolección de datos	16
J. Procedimiento de laboratorio	16
K. Aspecto Tecnológicos.....	18
L. Material e Instrumental.....	18
M. Aspectos Éticos.....	17
M. Procesamiento de datos	19
V. Resultados	20
VI. Discusión de Resultados.....	22
VII. Conclusiones.....	24
VIII. Recomendaciones	25
IX. Referencias bibliográficas	26
X. Anexos	30
Operacionalización de variables	30

I. Introducción

Uno de los pasos importantes de la terapia endodóntica es la obturación, favorece a la cicatrización y evita la entrada de microorganismos a la zona periapical. Esto se puede lograr manteniendo una asepsia estricta durante el tratamiento endodóntico. (Jyothsna y otros, 2020)

La gutapercha es el material de obturación más utilizado debido a su biocompatibilidad, rentabilidad, y posibles propiedades antimicrobianas, especialmente debido a su componente de óxido de zinc (ZnO) (Alves y otros, 2018).

La desinfección y la obturación son pasos del tratamiento endodóntico que determinan su éxito. Desde que se introdujo la gutapercha en endodoncia, se ha utilizado como material de obturación del conducto radicular. Por lo tanto, es necesaria una descontaminación rápida de la misma, de manera que no deforme su estructura y sea biocompatible con los tejidos que lo rodean. (Rudranaik, Nagashetty, Krishna Gowda, & Makonahalli Jaganath, 2024)

Los conos de gutapercha, a pesar de ser vendidos en paquetes sellados, pueden estar contaminados de fábrica o ser susceptible a la contaminación como resultado de los procesos de manipulación. Por lo tanto, la asepsia de los conos antes del procedimiento de obturación, así como precauciones tomadas para evitar la contaminación de instrumentos y material de obturación durante el tratamiento son de suma importancia para prevenir la infección cruzada (Ximenes Lins, Videira Marceliano-Alves, Bernini Lind, Souza Pinto y Hirata Junior, 2017).

Se han propuesto varios agentes químicos como la clorhexidina para la desinfección de los conos de gutapercha debido a su baja toxicidad y su amplio espectro antimicrobiano, a diferencia del hipoclorito de sodio en sus distintas concentraciones, ha sido considerado el desinfectante por excelencia, sin embargo algunos estudios han revelado que el hipoclorito de sodio puede inducir cambios morfológicos en la superficie de los conos de gutapercha, causando corrosión superficial y como consecuencia provocando rugosidad, algunos autores asumen

que los cambios físicos en los conos de gutapercha pueden comprometer su adaptación a las paredes del conducto radicular, debido a esto Cardoso y colaboradores propusieron el uso de la clorhexidina como alternativa a las soluciones de hipoclorito de sodio, ya que es un compuesto químico con gran actividad antibacteriana, antifúngica, antiviral y no es corrosivo (Nunes y Gouveaa, 2019). (Lalkrishna, Michael, Sonia, Jojo y Joy, 2015).

Agrawal y otros (2020) concluyeron que la inmersión de conos de gutapercha en una solución de Clorhexidina 2 % durante 30 segundos es un método eficaz para favorecer su desinfección, fue capaz de eliminar hasta el 80% de las bacterias.

A pesar de su potencial efectividad como agente antimicrobiano, existe controversia sobre su capacidad para eliminar de manera eficaz los microorganismos presentes en los conos de gutapercha. Por lo tanto, resulta importante investigar la eficacia de la clorhexidina al 2 %, con el fin de optimizar los protocolos de desinfección en el tratamiento de endodoncia y mejorar los resultados clínicos para los pacientes. Por lo que, la pregunta de investigación de este trabajo de tesis es ¿Cuál es el efecto antimicrobiano de la concentración y tiempo de aplicación de Clorhexidina al 2 % sobre conos de gutapercha de uso endodóntico?

Los resultados obtenidos de la presente investigación serán muy útiles para los odontólogos en general, especialistas, estudiantes de la carrera de odontología, pues se podrían establecer protocolos de desinfección de conos de gutapercha con clorhexidina y así mismo será beneficiosa para los propios pacientes evitando futuras reinfecciones en las endodoncias debido a bacterias presentes al manipular los conos de gutaperchas.

II. Objetivos

2.1 Objetivo General

Evaluar el efecto antimicrobiano de la concentración de clorhexidina y tiempos de su aplicación sobre los conos de gutapercha de uso endodóntico.

2.2 Objetivos Específicos

1. Determinar el grado de desinfección bacteriana de la clorhexidina al 2% en un tiempo de 15 segundos sobre los conos de gutapercha contaminados con saliva humana.
2. Determinar el grado de desinfección bacteriana de la clorhexidina al 2 % en un tiempo de 30 segundos sobre los conos de gutapercha contaminados con saliva humana.
3. Comparar el grado de desinfección bacteriana de la clorhexidina al 2 % a los 15 segundos y 30 segundos en conos de gutapercha contaminados con saliva humana.

III. Marco teórico

3.1 Gutapercha. Generalidades

La palabra Gutapercha (GP) proviene de la palabra getah que significa goma y pertja que es el árbol en idioma malayo. Esta es una resina natural que exuda del árbol *Isnandra guta*, del orden sapotáceo del género *Payena* que se encuentran en el sureste de Asia, Filipinas y en otros lados del mundo como en la selva amazónica (Laura, 2019).

3.1.2 Historia de la Gutapercha

La historia muestra que el GP se ha utilizado para diversos fines desde el siglo XVII. Alrededor de 1656, un historiador natural inglés, John Tradescant, introdujo la gutapercha en Europa y lo llamó madera de mazer (Vishwanath & Rao, 2019); sin embargo, el verdadero descubrimiento de la gutapercha no se sabe con certeza a qué época exacta se remonta, aunque el descubrimiento de la gutapercha se le ha atribuido al inglés John Tradescant The Oldest que en uno de sus viajes trajo esta resina natural junto con numerosas plantas a Inglaterra, pero es William Montgomerie y José D'Almeida, quienes más publicaciones tienen al respecto. (Álvarez, Péria, Santos y Grille, 2009).

En 1847 en un artículo publicado en *Logan's Journal*, se refieren como descubridores a los doctores James Thomas Oxley y Little's, en este artículo se comentan efusivamente las propiedades de la gutapercha, su descripción botánica, las ventajas económicas y comerciales de su uso. Se desató una amplia polémica entre los doctores por querer atribuirse cada uno su descubrimiento, aunque la historia lo sigue refiriendo a W. Montgomerie y a J. D'Almeida. (Álvarez, Péria, Santos y Grille, 2009).

6.1.3 Uso de la Gutapercha en Endodoncia

Este es el material preferido como material de relleno sólido para la obturación de endodancias por poseer mínima toxicidad, escasa irritabilidad tisular, menor

reacción alérgica, fácil de manipular, sus dimensiones no se alteran, flexible, fácil de remover con calor y soluble al cloroformo y xylol. Si bien es un material que cumple con bastantes propiedades, no puede ser utilizado como material de relleno único, ya que carece de adherencia que es necesaria para poder sellarse con las paredes de dentina del conducto radicular. Por esta razón es necesario la asociación con un cemento que ayudará al sellado (Laura, 2019).

3.1.4 Fases físicas de la Gutapercha

Existen diferentes tipos de gutapercha, cuando sale del árbol se encuentra en una fase beta, así la gutapercha es sólida, dúctil y maleable, pero puede volverse quebradiza, con el paso del tiempo y no se adhiere a nada. Al calentarla a 42-49 °C sufre un cambio y pasa a fase alfa, donde es blanda, pegajosa, no dúctil y no maleable. Al calentarla a 56-62 °C pasa a fase gamma pero no se conocen bien sus propiedades, aunque parecen similares a la fase alfa (Prakash, Gopikrishna y Kandaswamy, 2005).

La importancia de estas fases radica en que los materiales se expanden al calentarlos de la fase beta a la fase alfa o gamma desde menos del 1% a más del 3%. Al enfriarse a la fase beta se produce una contracción de magnitud parecida, aunque la contracción es siempre mayor que la expansión, pudiendo diferir hasta un 2%, por lo que su comportamiento difiere en cuanto a su manejabilidad. Esto significa que si calentamos la gutapercha a más de 42-49 °C y la introducimos en un conducto preparado debemos de condensarla para reducir el problema de la contracción (Prakash, Gopikrishna y Kandaswamy, 2005).

Existen varios tipos de gutapercha obtenidos con diferentes tratamientos, a 25-30 °C se ablanda, a 60 °C es fluida y plástica pero ya a 100 °C se descompone (Álvarez, Péria, Santos, & Grille, 2009).

3.1.5 Composición de la Gutapercha

La gutapercha es un isómero trans del polisopreno y se encuentra en forma cristalina en un 60% aproximadamente. El isómero cis es una goma natural fundamentalmente amorfa y más elástico que el isómero trans. El isómero trans es duro, frágil y menos elástico, aproximadamente el 60% posee cierta estructura

cristalina. Son parecidas en cuanto a similitud estructural, pero con diferencias estructurales. La gutapercha es un hidrocarburo insaturado 2 metil1-3 butadieno, presenta dobles enlaces alternados, el grupo metilo del segundo átomo de C y el H del tercero pueden saturarse especialmente de formas diferentes, las isomerías (Vishwanath y Rao, 2019).

La obtención de la gutapercha por exudación de la resina del árbol se realiza mediante la recolección del producto y el tratamiento mediante agua y calor así se obtiene el producto industrial, que mediante el aditamento de diferentes sustancias y los procesados a diferentes temperaturas se obtienen los distintos tipos de gutapercha.

La gutapercha es insoluble en agua, pero sí en cloroformo, éter, xilol y eucaliptol. Al paso del tiempo, luz y/o aire, hay un proceso de oxidación degenerativa y se vuelve más quebradiza, por lo cual debe de controlarse la fecha de caducidad, así como las condiciones de almacenamiento, teniendo siempre los envases bien cerrados y sin exponer a la luz directa, ni a cambios de temperatura (Álvarez, Pérnica, Santos, & Grille, 2009).

La consistencia de la gutapercha es resultado de la mezcla de diferentes sustancias:

- Gutapercha 19-22 %.
- Óxido de Zinc 59-79 %.
- Sales de metales pesados para la radiopacidad 1-17 %.
- Cera de resina y suavizantes 1-4 %. (Laura, 2019)

3.1.6. Propiedades físicas de la Gutapercha

La gutapercha es un material termoplástico y viscoelástico sensible a la temperatura y presenta las siguientes características:

- En rangos de temperatura ambiente, existe en un estado rígido y sólido.
- Se vuelve quebradizo con la exposición prolongada a la luz y al aire debido a la oxidación.
- Se ablanda a 60 °C y se derrite alrededor de 95 °C–100 °C con degradación parcial.

- La disminución de la temperatura aumenta la resistencia y la resiliencia y viceversa, especialmente cuando la temperatura supera los 30 °C.
- Las propiedades físicas de resistencia a la tracción, rigidez, fragilidad y radiopacidad dependen de los componentes orgánicos (polímero GP y cera/resinas) e inorgánicos (óxido de zinc y sulfatos metálicos).
- El óxido de zinc aumenta la fragilidad, disminuye el porcentaje de elongación y la resistencia máxima a la tracción.
- Una cuenta de la resistencia a la tracción de GP da una medida más confiable de sus propiedades que las pruebas de compresión.
- Los materiales con la propiedad predominante de ductilidad no exhiben valores repetibles de compresión debido a los complicados patrones de tensión resultantes. (Vishwanath y Rao, 2019)

La propiedad de viscoelasticidad es fundamental durante la condensación de GP en los procedimientos de obturación, lo que permite la deformación plástica del material bajo una carga continua que hace que el material fluya. Las temperaturas de transformación de la GP dental son de 48.6 °C a 55.7 °C para la transición de la fase β a la fase α y de 59,9 °C a 62,3 °C para la transición de la fase α a la amorfa, según el compuesto específico; calentar el GP dental a 130 °C provoca cambios físicos o degradación. (Vishwanath y Rao, 2019)

En la siguiente tabla se muestran los valores medios de algunas propiedades físicas de algunos conos de gutapercha clínicamente utilizables de varios fabricantes. Sin embargo, se han intentado modificaciones continuas a lo largo de los años mediante la adición de varios materiales para mejorar las propiedades y lograr un mejor rendimiento clínico.

Tabla 1

Propiedades físicas de la gutapercha.

Propiedades físicas	Valores
Límite elástico	1000-1300 psi

Resiliencia	40-80 in/lb
Resistencia a la tracción	1700-3000 psi
Módulo elástico	15,500-28,000 psi
Flexibilidad	0.07-0.12 in/lb
Elongación (%)	170-500

Fuente: (Vishwanath y Rao, 2019)

3.2. Clorhexidina

3.2.1 Historia

Respecto al origen de la clorhexidina se destaca que:

Fue desarrollada en la década de 1940 por Imperial Chemical Industries, Inglaterra, y salió al mercado en 1954 como antiséptico para heridas de la piel... La inhibición de la placa por la clorhexidina fue investigada en 1962 por Schroeder, pero el estudio definitivo fue realizado por Loe y Schiott en 1970. (Addy, 2001, p.480)

3.2.2. Estructura química

La fórmula estructural de la clorhexidina consta de dos anillos simétricos de 4-clorofenilo y dos biguanidas grupos conectados por una cadena central de hexametileno, como se muestra en la siguiente figura:

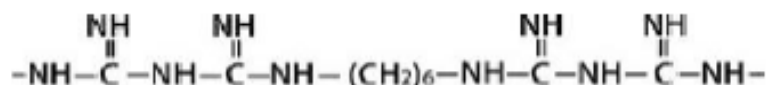


Figura 1. Fórmula molecular de la Clorhexidina. Fuente: (Shihaab y Pradeep, 2016)

3.2.3 Almacenamiento

Su vida útil es de aproximadamente de un año, siempre que el embalaje sea adecuado, en una botella oscura refrigerada. Respecto a la formulación en gel, podrá mantener su pH y actividad antimicrobiana satisfactoria durante aproximadamente 10 meses después de la fecha de fabricación. La alteración del color se ha encontrado en muestras 1 año después de la fecha de fabricación debido

a la presencia de productos de descomposición resultantes a una vida útil prolongada o a la exposición a altas temperaturas (Shihaab y Pradeep, 2016).

3.2.4 Mecanismo de acción

Se encuentra que el mecanismo de acción tiene lugar a través de los iones catiónicos que tienen carga negativa. Rápidamente son atraídos por la membrana celular interna de las bacterias y otros microorganismos, ejerciendo un efecto bactericida para eliminarlos sirviendo, así como un agente anti-placa y antimicrobiano. (Ferguson y otros, 2002, como se citó en Shreya, 2016, p.772)

3.2.5 Efecto antibacteriano

La clorhexidina es un bactericida de amplio espectro. Es eficaz contra bacterias Gram positivas, Gram negativas y hongos. El efecto bactericida se debe a que la molécula catiónica se une a complejos extramicrobianos y a las paredes celulares microbianas cargadas negativamente, alterando así el equilibrio osmótico de las células. A bajas concentraciones de clorhexidina produce un efecto bacteriostático, a altas concentraciones produce la alteración de la membrana dando como resultado la muerte celular. La clorhexidina inactiva los microorganismos con un espectro más amplio y una tasa de destrucción más rápida que otros antimicrobianos. (Shihaab y Pradeep, 2016).

3.2.6 Sustantividad de la clorhexidina

La eficacia de CHX se debe a su capacidad de absorberse en superficies cargadas negativamente en la boca (por ejemplo, dientes, mucosa, biopelícula, materiales restauradores), liberándose lentamente de estos sitios de retención y, por lo tanto, manteniendo una actividad antimicrobiana prolongada durante varias horas. En cuanto a su sustentividad, en varios estudios se ha encontrado que el uso de CHX como sustancia irrigante del conducto radicular impidió la actividad microbiana a partir de las 48 h, 7 días (en la formulación líquida y gel), 21 días, 4 semanas, hasta 12 semanas (Gomes, y otros, 2013) (Shreya, 2016).

3.2.7 Uso de la clorhexidina en endodoncia

- Papel en la reducción de las endotoxinas

El lipopolisacárido, un componente de la membrana externa de las bacterias gramnegativas que está predominantemente involucrado en la infección del conducto radicular, es un mediador importante en la patogenia de la periodontitis apical y mejora la sensación de dolor en las infecciones endodónticas y en los estudios se ha observado como la clorhexidina mejoró las propiedades de reducción del contenido de endotoxina en conductos radiculares in vitro. (Gomes, y otros, 2013) (Shreya, 2016)

- Resistencia a la microfiltración

La presencia de surfactante superficial en clorhexidina aumenta la energía superficial y la capacidad humectante de la dentina. Esto puede afectar positivamente la adhesión de materiales hidrofílicos adheridos a la superficie de la dentina como la gutapercha, por lo tanto, previene la microfiltración. (Gomes y otros, 2013) (Shreya, 2016)

- Penetración apical de fluidos

Los conductos irrigados o medicados con clorhexidina no afectan negativamente la capacidad de los materiales de obturación radicular para evitar la penetración de líquidos en el sistema de conductos radiculares a través del foramen apical (Shreya, 2016).

- Capacidad de disolución tisular

El gluconato de clorhexidina ha sido recomendado como irrigante del conducto radicular debido a su acción antimicrobiana de amplio espectro, sustantividad y baja toxicidad. Cuando se utiliza Clorhexidina como irrigante, se debe dar énfasis a la instrumentación completa del canal para remover todos los restos de tejido pulpar, ya que no promueve una necrosis superficial. (Gomes y otros, 2013) (Shreya, 2016)

- Medicamento intracanal

La clorhexidina se utiliza como medicamento intracanal tanto en dientes vitales como no vitales. Esta propiedad se debe a su pH alcalino. Es bactericida y neutraliza

los restos de tejido restantes en el sistema de conductos radiculares (Gomes y otros, 2013) (Shreya, 2016)

- Resistencia a la microfiltración

Muchos estudios sobre el papel de los irrigantes en la microfiltración han concluido que las características de la dentina tratada con clorhexidina también podrían explicar la mayor resistencia a la filtración microbiana. La presencia de surfactante superficial en clorhexidina aumenta la energía superficial y la capacidad humectante de la dentina (Shihaab y Pradeep, 2016).

- Acción sobre los conos de gutapercha

Los estudios demostraron que la clorhexidina al 2% no cambió las propiedades del cono de gutapercha después de una exposición de hasta 30 minutos, lo que sugiere que esta sustancia es menos dañina que el hipoclorito de sodio para la gutapercha. (Shreya, 2016)

La CHX en comparación con NaOCl, resultó ser mejor desinfectante, es decir, presentó valores altos de energía libre superficial. Los conos desinfectados con CHX presentaron ángulos de contacto menores que los de NaOCl, favoreciendo la interacción entre la superficie sólida (cono) y el líquido, en este caso el sellador. (Gomes y otros, 2013)

- Papel en la unión de dentina

Se ha demostrado que la aplicación de clorhexidina antes del grabado ácido no tiene efectos adversos sobre las uniones adhesivas de composite inmediatas en la dentina, el esmalte o con cementos de ionómero de vidrio reforzados con resina. Algunos autores han informado que la irrigación endodóntica con solución de clorhexidina aumentó significativamente la fuerza de unión a la dentina radicular (Shreya, 2016).

3.2.8. Interacción de la Clorhexidina con irrigantes endodónticos

Debido a su actividad antimicrobiana de amplio espectro y su incapacidad de disolver los tejidos orgánicos, se ha propuesto un régimen de irrigación en el que

NaOCl sería utilizado en toda la instrumentación, seguido de EDTA, y se utilizaría clorhexidina como irrigante final (Shihaab y Pradeep, 2016).

La combinación de NaOCl y Clorhexidina ha sido recomendada para mejorar sus propiedades antimicrobianas. La ventaja de utilizar un enjuague final con clorhexidina sería para prolongar la actividad antimicrobiana debido a la sustantividad clorhexidina. Por otro lado, aspecto antimicrobiano, la asociación de NaOCl con clorhexidina conduce a la formación de un precipitado de color marrón anaranjado, una capa química que cubre los túbulos dentinarios y puede interferir con el sellado del relleno radicular (Shihaab y Pradeep, 2016).

3.3 Estudios Previos

Kulkarni y Desai (2019) realizaron un estudio in vitro donde evaluaron la eficacia de cuatro desinfectantes utilizados en conos de gutapercha contaminados con *E. faecalis* y *S. Aureus*. El tiempo de desinfección fue de 3 minutos y la observación de la turbidez fue 0 y 7 días. La Clorhexidina 2% demostró desinfección absoluta al día 0 y 7 con ambos microorganismos.

Carvalho y otros (2020) en su artículo sobre descontaminación de conos de gutapercha utilizados en endodoncia, realizaron contaminación de éstos con *E. faecalis* para luego ser introducidos en tres soluciones desinfectantes durante 30 segundos y 1 minuto. La Clorhexidina 2% presentó control positivo a los 30 segundos y completa desinfección al minuto de inmersión de los conos de gutapercha.

Jyohtsna y otros (2020) en su estudio sobre la desinfección de conos de gutapercha contaminados con *Staphylococcus* por 30 minutos, verificaron la eficacia de cuatro agentes químicos al sumergir los conos de gutapercha en estos desinfectantes. La Clorhexidina al 2% mostró turbidez después del minuto 1 y 5 demostrándose de esta manera que ocupa mayor tiempo para desinfectar por completo los conos de gutapercha contaminados.

Bansal y otros (2020) realizaron un estudio comparativo donde observaron in vitro la eficacia de cuatro agentes desinfectantes, entre ellos la Clorhexidina 2%. Los conos de gutapercha fueron contaminados con *E. faecalis*. El tiempo de inmersión de los conos fue de 1 y 10 minutos y la turbidez fue observada después de 24, 48 y 72 horas. La Clorhexidina 2% fue el único agente químico que desinfectó en un minuto los conos de gutapercha en el tiempo establecido en el estudio.

Agrawal y otros (2020) compararon la eficacia de cuatro agentes químicos en la desinfección de conos de gutapercha contaminados con saliva humana. Los autores concluyen que a partir del análisis estadístico efectuado se puede concluir que la

inmersión de conos de gutapercha en una solución de Clorhexidina 2 % durante 30 segundos es un método eficaz para favorecer su desinfección.

IV. Diseño Metodológico

A. Tipo de Estudio

El estudio cuantitativo, experimental

B. Área de Estudio

El análisis del crecimiento bacteriano de los especímenes se realizó en el Laboratorio de Microbiología del área de conocimiento de Ciencias Médicas de la UNAN-León en el Recinto Universitario Carlos Fonseca Amador.

C. Población de Estudio

La población en conjunto fueron conos de gutapercha 30/04 (contaminados con saliva humana de forma intencionada) preparadas desde su empaque sellado.

D. Muestra

Para este estudio se utilizó 40 conos de gutapercha numeración 30/04 (contaminados con saliva humana de forma intencionada) de una marca comercializada en los depósitos dentales de Nicaragua.

E. Método de muestreo

Los conos de gutapercha fueron seleccionados por muestra no probabilística y el tipo de muestreo por conveniencia, cumpliendo los criterios de inclusión.

F. Unidad de análisis

Para este estudio la unidad de análisis fueron los conos de gutapercha numeración 30/04 contaminados con saliva humana de forma intencionada.

G. Criterio de inclusión

- Conos de gutapercha de numeración 30/04 nuevos
- Conos de gutapercha de numeración 30/04 del mismo lote
- Conos de gutapercha de numeración 30/04 que se encontraron estériles

H. Criterio de exclusión

- Conos de gutapercha 30/04 que presentaron alteraciones morfológicas
- Conos de gutapercha 30/04 que se encontraron fuera de su caja de empaque
- Conos de gutapercha 30/04 que no fueron una marca comercializada en Nicaragua.

I. Procedimiento de Recolección de datos

Para la recolección de datos se utilizó una ficha que contiene las variables de estudio. Se anoto el número de unidades formadoras de colonias según se registró en el análisis de crecimiento bacteriano.

Se establecieron dos grupos de experimentación:

- Grupo A: 20 Conos de gutapercha contaminados con saliva humana sumergidos en concentración de desinfectante de 2 % durante 15 segundos
- Grupo B: 20 Conos de gutapercha contaminados con saliva humana sumergidos en concentración de desinfectante de 2% durante 30 segundos

J. Procedimiento de laboratorio

En la presente investigación se utilizaron 50 conos de gutapercha estandarizados de tamaño 30/04 del mismo lote. Los paquetes permanecieron cerrados hasta realizar las pruebas. Se obtuvo 2 ml de saliva humana entera no estimulada justo antes de realizar la prueba en un recipiente estéril de muestra de orina. Luego, las muestras se dividieron aleatoriamente en dos grupos de 20 muestras cada uno con diferentes intervalos de tiempo.

Grupo A: Clorhexidina al 2% 15 segundos

Grupo B: Clorhexidina al 2% 30 segundos

Antes de realizar el experimento, se realizó dos tipos de controles:

- Control Positivo: Se tomaron 5 conos de gutapercha que se contaminaron previamente con saliva humana y se transfirieron directamente al tubo de ensayo con solución salina sin desinfectarlos.
- Control Negativo: Se tomaron 5 conos de gutapercha de un paquete recién sellado y se colocaron directamente al tubo de ensayo con solución salina.

Las muestras de los grupos de control se pasaron por agitación vortex y posteriormente se incubaron a 37 °C durante 72 horas. Obteniendo en el control positivo mas de 100 unidades formadoras de colonia y en el control negativo no hubo unidades formadoras de colonia.

Después de haber realizado el procedimiento de los grupos de control se procedió a realizar el experimento con 40 conos de gutapercha, donde cada grupo de 20 conos de gutapercha se contaminaron sumergiéndolos completamente por 30 segundos en un tubo de ensayo de 2 ml de saliva humana, luego se secaron cado uno de los conos de gutapercha con gasa estéril por 1 minuto expuestos al medio ambiente y se sumergieron en clorhexidina al 2% en diferentes intervalos tiempos: 15 segundos y 30 segundos, se retiraron los conos de la solución desinfectante, se dejaron secar en gasa estéril por 1 minuto. Posteriormente, los conos de gutapercha se colocaron en tubos de ensayo que contenían solución salina estéril, luego se agitaron en vórtex durante 30 segundos y luego fueron extraídos de este.

Del mismo tubo de gutaperchas contaminadas se inocularon en agar MacConkey para bacterias aerobias y agar sangre para bacterias anaerobias. Se procedió a extraer la muestra de solución salina del tubo de ensayo que pasó por agitación con vórtex con una micropipeta 10 microlitros y se realizó un estriado completo en la placa Petri, luego fueron incubados 72 horas a una temperatura de 37 °C y se realizó el conteo de manera manual, mediante el uso de una luz de contraste y un puntero.

El crecimiento bacteriano se evaluó por la cantidad de UFC si es menor de 10 unidades formadoras de colonias se consideró negativo y si es mayor de 10 se consideró positivo y se procedió al conteo total.

K. Aspecto Tecnológicos

- Campana de extracción de gases:
Especificaciones Telstar modelo AV-100, año 2002 50/60 Hz 0,600 Kw
- Agitador Vortical
Thermolyne, Maxi Mix II
- Equipo de refrigeración marca PRECISION
- iPhone 13 Pro max

L. Material e Instrumental

- Guantes nitrilo M
- Mascarilla
- Gorro
- Gabacha blanca
- Campo operatorio
- Conos de gutapercha 30.04 FKG
- Vaso estéril para muestra de orina
- Gasa estéril 4 x 4 8 pliegues
- Pinza algodонера estéril
- Clorhexidina al 2% Maquira
- Cloruro de sodio al 0.85%
- Saliva humana
- Tubos de ensayo (Eppendorf)
- Mechero a base de alcohol
- Rejilla de tubos de ensayo
- Aza redonda calibrada de 10 microlitros
- Placa Petri con agar sangre y agar Mcconkey
- Marcador permanente marca Pentel

M. Aspectos éticos

En esta investigación científica se utilizó saliva humana de una persona anónima que fue procesada con todas las medidas de bioseguridad establecidas en el laboratorio de microbiología de la UNAN León, al igual que fueron manipuladas por personal altamente calificado. Las muestras de cultivo bacteriano posterior al experimento fueron desechadas con todas las medidas de bioseguridad correspondientes.

Este estudio no busca ningún incentivo para casas comerciales de productos odontológicos, por tanto, no existe ningún conflicto de interés de las mismas.

N. Procesamiento de datos

Para realizar el procesamiento de datos del presente estudio no fue necesario el uso del programa estadístico SPSS versión 27 para Windows, ya que no se obtuvieron recuentos numéricos por lo tanto se realizó un análisis tipo cualitativo, las tablas se realizaron en programa Excel Profesional Plus 2021

V. Resultados

Tabla 1

Grado de desinfección bacteriana de la clorhexidina al 2% en un tiempo de 15 segundos sobre los conos de gutapercha contaminados con saliva humana.

Muestra	Resultado
15 segundos (CHX 2%)	No hubo crecimiento en 72 horas de incubación
Control +	+100 UFC en 72 horas de incubación
Control -	No hubo crecimiento en 72 horas de incubación

Fuente: Elaboración Propia.

En esta tabla 1 se puede observar que la inmersión de conos de gutapercha durante 15 segundos en solución de Clorhexidina 2% no hubo crecimiento de bacterias después de 72 horas de incubación.

Tabla 2

Grado de desinfección bacteriana de la clorhexidina al 2% en un tiempo de 30 segundos sobre los conos de gutapercha contaminados con saliva humana.

Muestra	Resultado
30 Segundos (CHX 2%)	No hubo crecimiento en 72 horas de incubación
Control +	+100 UFC en 72 horas de incubación
Control -	No hubo crecimiento en 72 horas de incubación

Fuente: Elaboración Propia

En esta tabla se puede observar que la inmersión de conos de gutapercha durante 30 segundos en solución clorhexidina al 2% no hubo crecimiento bacteriano en 72 horas de incubación

Tabla 3

Comparación del grado de desinfección bacteriana de la Clorhexidina al 2% en diferentes tiempos de sumersión 15 segundos y 30 segundos sobre conos de gutapercha contaminados con Saliva Humana

Muestra	Resultado
15 segundos (CHX 2%)	No hubo crecimiento en 72 horas de incubación
30 segundos (CHX 2%)	No hubo crecimiento en 72 horas de incubación
Control +	+100 UFC en 72 horas de incubación
Control -	No hubo crecimiento en 72 horas de incubación

Fuente: Elaboración Propia

En la tabla 3 se realiza la comparación entre los 2 diferentes tiempos de inmersión de conos de gutapercha en clorhexidina al 2% en 2 diferentes intervalos de tiempos: 15 segundos y 30 segundos, se puede observar que hubo una completa desinfección de los conos de gutapercha en los 2 intervalos de tiempo.

VI. Discusión de Resultados

En la presente investigación se encontraron datos significativos acerca del grado de desinfección de Clorhexidina al 2% en conos de gutapercha previamente contaminados con saliva humana.

En este estudio se logró observar que la clorhexidina al 2% durante 15 segundos y 30 segundos logró una completa desinfección de los conos de gutapercha ya que no se observaron unidades formadoras de colonia, sin embargo, Carvalho y colaboradores en el 2020 realizaron un estudio sobre descontaminación de conos de gutapercha previamente contaminados, sumergiéndolos en Clorhexidina al 2%, en dos diferentes intervalos de tiempo: 30 segundos y 1 minuto, donde se observó que sólo a 1 minuto hubo una completa desinfección de los conos de gutapercha, esta discrepancia puede deberse al medio de cultivo utilizado y el tiempo de incubación, en el presente estudio se incubaron por 72 horas en agar sangre y agar MacConkey mientras que Carvalho y otros (2020) utilizó agar infusión cerebro corazón y su tiempo de incubación fue de 48 horas.

En el estudio de Agrawal y otros (2020) compararon la efectividad de diferentes agentes desinfectantes sobre conos de gutapercha contaminados con saliva humana, obteniendo que la clorhexidina al 2% en 30 segundos no presentó crecimiento bacteriano, y fue capaz de desinfectar más del 80% de los conos de gutapercha en este intervalo de tiempo, esto es debido a que la clorhexidina al 2%, es capaz de eliminar bacterias grampositivas y gramnegativas que se encuentran en la saliva humana

En el estudio realizado por Kulkarni y Desai (2019) evaluaron la eficacia de la clorhexidina al 2% en un intervalo de tiempo de 3 minutos sobre los conos de gutapercha contaminados con *E. faecalis* y *S. Aureus*. Teniendo como resultado que la Clorhexidina al 2% fue capaz de eliminar estas bacterias en este intervalo de tiempo, a diferencia de el presente estudio que demostró que en menor tiempo de

sumersión fue capaz de desinfectar los conos de gutapercha contaminados con saliva humana.

En el estudio realizado por Bansal y otros (2020) evaluaron la eficacia de la Clorhexidina 2% y otras soluciones desinfectantes, donde los conos de gutapercha fueron contaminados con *E. faecalis*. El tiempo de inmersión de los conos fue de 1 y 10 minutos y la turbidez fue observada después de 24, 48 y 72 horas, se observó que la Clorhexidina 2% fue el único agente químico que desinfectó en un minuto, no coincidiendo con nuestro estudio ya que se demostró que a los 15 y 30 segundos fue capaz de eliminar las bacterias presentes en la saliva humana.

Jyohtsna y otros (2020) en su estudio evaluaron la desinfección de conos de gutapercha contaminados con *Staphylococcus* por 30 minutos, donde evaluaron la eficacia de la Clorhexidina al 2% obteniendo como resultado presencia de turbidez después de 1 y 5 minutos, demostrándose de esta manera que necesita mayor tiempo para desinfectar por completo los conos de gutapercha contaminados, a diferencia de este estudio el cual demostró que no hubo crecimiento bacteriano, demostrando que no se requirió mayor tiempo para desinfectar los conos de gutapercha

VII. Conclusiones

1. Se encontró que la clorhexidina al 2% durante 15 segundos eliminó completamente las bacterias en los conos de gutapercha.
2. Se encontró que la clorhexidina al 2% durante 30 segundos eliminó completamente las bacterias en los conos de gutapercha.
3. Al comparar los tiempos de sumersión de 15 y 30 segundos se encontró que ambos tiempos eliminan las bacterias.

VIII. Recomendaciones

1. Realizar más estudios con diferentes tipos de bacterias para determinar la eficacia de la clorhexidina sobre los conos de gutapercha
2. Se propone que el tiempo optimo recomendable de desinfección de los conos de gutapercha con clorhexidina al 2% es de 15 y 30 segundos.
3. Se recomienda el uso de la Clorhexidina al 2% como una alternativa para una rápida desinfección de los conos de gutapercha durante el tratamiento de endodoncia

IX. Referencias bibliográficas

- Agrawal, M., Kotalwar, G., Gelda, A., Kadtane, S., Badade, A., & Hegde, V. (2020). Effectiveness of Different Agents for Disinfection of Gutta-percha cones an in vitro study. *Journal of Research in Medical and Dental Science*, 169-172.
- Aktemur, S., Aslan, M., Uzunoglu, E., & Özcelik, B. (2015). Antimicrobial and structural effects of different irrigation solutions on gutta-percha cones. *J Istanbul Univ Fac Dent*, 27-32.
- Álvarez, C., Péria, I., Santos, J., & Grille, C. (2009). Gutapercha: pasado y presente. *Gaceta Dental*, 202, 126-139.
- Alves, M., Lopes, G. L., C., L., J, B., F, V., I.P, V., & M.H Fernandes. (2018). Antibacterial effect and biocompatibility of a novel nanostructured ZnOcoated. *Materials Science & Engineering C*, 840-848.
- Bansal, M., Bansal, R., Dev, N., Singh, M., Chaudhary, S., & Singla, P. (2020). A comparative evaluation of different chemical agents and herbal products in disinfecting gutta-percha cones: an in vitro study. *Dent J Adv Stud*, 36-39.
- Carvalho, C., Pinto, M., Batista, S., Quelemes, P., Falcao, C., & Ferraz, M. (2020). Decontamination of gutta-percha cones employed in endodontics. *Acta Odontol Latinoamerica*, 45-49.
- Gomes, B., Vianna, M., Matsumoto, C., Rossi, V., Zaia, A., Ferraz, C., & Souza Filho, F. (2005). Disinfection of gutta-percha cones with chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 512-517.
- Gomes, B., Vianna, M., Zaia, A., Almeida, J., Souza, F., & Ferrez, C. (2013). Clorhexidine in endodontics. *Brazilian Dental Journal*, 89-102.
- Jyothsna, K., Kumar, S., Prasad, D., Kumar, C., Krishna, N., & Babu, K. (2020). Evaluation of disinfection of gutta-percha cones using various chemical solutions- An in-vitro study. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*, , 41-45.

- Kasidid, R., Lilla, H., Nelli, F., Peter, H., & Wuttapon, S. (2020). Antimicrobial Efficacy of Chlorhexidine and Sodium Hypochlorite in Root Canal Disinfection: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Journal of Endodontics*, 1032-1041.
- Kerezoudis, N., Valavanis, D., & Proutzos, F. (1999). A method of adapting gutta-percha master cones for obturation of open apex cases using heat. *Int Endod J*, 53-60.
- Kulkarni, M., & Desai, N. (2019). An in vitro evaluation of antimicrobial efficacy of 5% sodium hypochlorite, 2% chlorhexidine, and herbal extracts of neem and Aloe vera in disinfection of gutta-percha cones. *Saudi Endod J*, 181-185.
- Lalkrishna, R., Michael, M., Sonia, P., Jojo, K., & Joy, M. (2015). Chair side disinfection of gutta percha points - An in vitro comparative study between a herbal alternative propolis extract with 3% sodium hypochlorite, 2% chlorhexidine and 10% povidone iodine. *International Journal of bioassays*, 4414-4417
- Laura, E. (2019). *Estudio in vitro de la influencia de la temperatura de termoplastificación y el uso de hipoclorito de sodio 5.25% en la carga microbiana de las barras de gutapercha*. Universidad Católica de Santa Maróa. 1-65
- Madhuri, A., Ganesh, K., Akshay, G., Safalya, K., Abhishek, B., & Vivek, H. (2020). Effectiveness of Different Agents for Disinfection of GuttaPercha Cones an in vitro study. *Journal of Research in Medical and Dental Science*, 169-172.
- Manica, M., Flores, R., Demarchi, A., Farina, A., Cecchin, D., & Albino, M. (2015). Effectiveness of different auxiliary chemical substances in the rapido disinfection of gutta-percha points-an in vitro study. *RFO, Passo Fundo*, 64-68.
- Marvaniya, J., Agarwal, K., Mehta, D., Parmar, N., Shyamal, R., & Patel, J. (2022). Minimal Invasive Endodontics: A Comprehensive Narrative Review. *Cureus*, 1-8
- Nunes, A., & J.P. Gouveaa, L. d. (2019). Influence of different disinfection protocols on gutta-percha cones surface roughness assessed by two

- different methods. *Journal of Materials Research and Technology*, 5464-5470.
- Prakash, R., Gopikrishna, V., & Kandaswamy, D. (2005). Gutta-percha- an untold story. *Endodontogy*, 32-36.
- Rudranaik, S., Nagashetty, Y. H., Krishna Gowda, S. C., & Makonahalli Jaganath, B. (2024). Effect of various disinfectant solutions on the tensile strength of gutta-percha using the rapid sterilization technique. *Journal of Conservative Dentistry and Endodontics*, 154-158.
- S, A. T., Aslan MH, U. E., & B, O. (2015). Antimicrobial and structural effects of different irrigation solutions on gutta-percha cones. *J Istanbul Univ Fac Dent*, 27-32.
- Shihaab, S., & Pradeep, D. (2016). Chlorhexidine: Its properties and effects. *Research J Pharm and Tech*, 1755-1760.
- Shreya, S. (2016). Clorhexidine as an irrigant in endodontics-a review. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 772-774.
- Subha N, P. V. (2013). Efficacy of peracetic acid in rapid disinfection of Resilon and gutta-percha cones compared with sodium hypochlorite, chlorhexidine, and povidone-iodine. *Journal of Endodontics*, 1261-1264.
- Ummer, S., Dhanapal, P., George, L., Charlie, K., & Joseph, A. (2016). Evaluation and Comparison of Three Chemical Agents with a New Herbal Agent for Disinfection of Gutta-percha cones: An in vitro study. *Cons Dent Endod J*, 33-37.
- Vishwanath, V., & Rao, H. (2019). Gutta-percha in endodontics- A comprehensive review of material science. *Journal of Sonervative Dentistry*, 216-222.
- Vishwanath, V., & Rao, H. M. (2019). Gutta-percha in endodontics - A comprehensive review of material science. *J Conserv Dent*, , 216-222.
- Wani, S., Pushpa, Y., Dass, D., & Priya, R. (2023). Impact of herbal & chemical disinfectant on properties of Gutta percha. *International Journal of Applied Dental Sciences*, 170-172.
- Ximenes Lins, R., Videira Marceliano-Alves, M. F., Bernini Lind, B., Souza Pinto, S., & Hirata Junior, R. (2017). Effectiveness of peracetic acid in rapid

disinfection of gutta-percha and Resilon cones exposed to *Enterococcus faecalis*. *Dental Press Endodontics*, 85-91

X. Anexos

Operacionalización de variables

Nombre de las variables	Definición operacional de las variables	Dimensiones	Valores	Escala
Desinfección bacteriana de conos de gutapercha	Nivel de eliminación de microorganismos patógenos que contaminan los conos de gutapercha	Unidades formadoras de colonias UCF	< 10 UFC >10 UFC	Nominal
Tiempos de aplicación de CHX	Cantidad en minutos de sumersión de conos de gutapercha en soluciones acuosas de CHX	Segundos	15 segundos 30 segundos	Discreta

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA

UNAN -LEON

ESPECIALIDAD DE ENDODONCIA

Evaluación del efecto antimicrobiano de la concentración y tiempo de aplicación de Clorhexidina sobre conos de gutapercha de uso endodóntico

FICHA RECOLECTORA DE DATOS No. _____

Concentracion	Cantidad	Crecimiento
CHX 2%	de UFC	Bacteriano
15 segundos		
30 segundos		



Imagen 1. Clorhexidina 2%



Imagen 2. Caja sellada de conos de gutapercha 30.04



Imagen 3. Caja sellada de conos de gutapercha 30.04 (descripción de lote)



Imagen 4. Vasos esteriles con Clorhexidina al 2%, saliva, gasas.



Imagen 5. Campana de extracción de gases.



Imagen 6. Agitador Vortex



Imagen 7. Tubos de ensayo en su rejilla

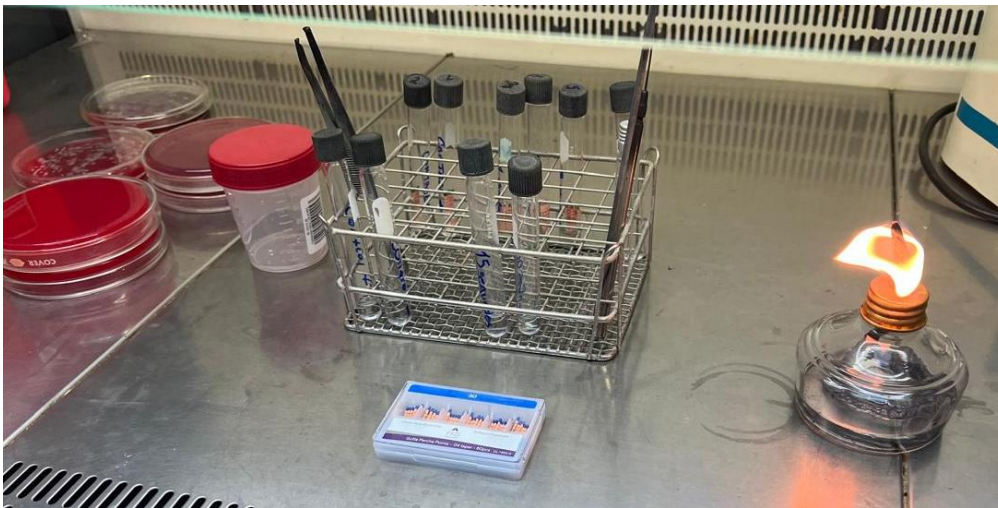


Imagen 8. Procedimiento de laboratorio

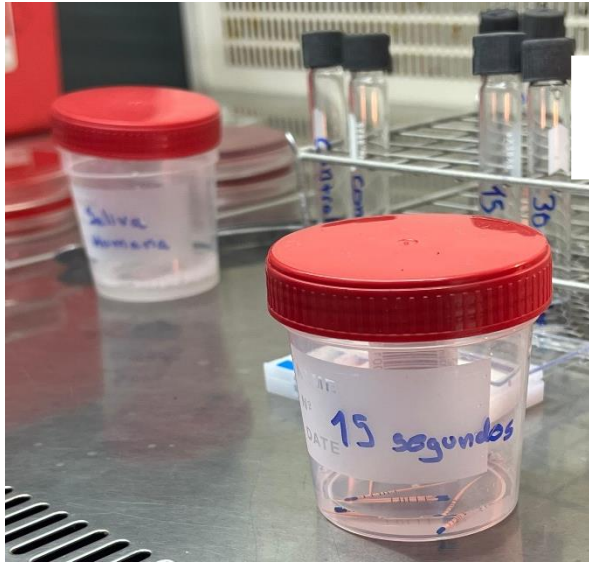


Imagen 9. Proceso de desinfección de conos

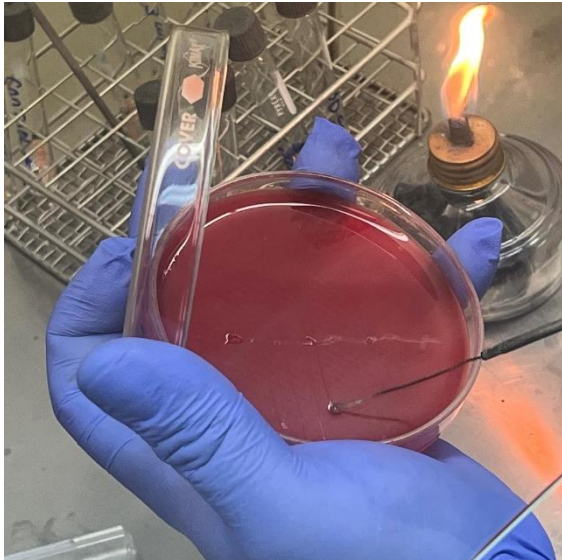


Imagen 10. Proceso de siembra en medio de cultivo

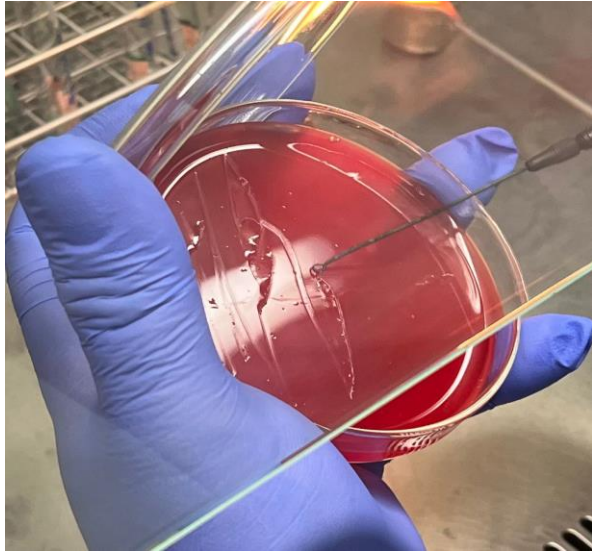


Imagen 11. Proceso de trazado en medio de cultivo.

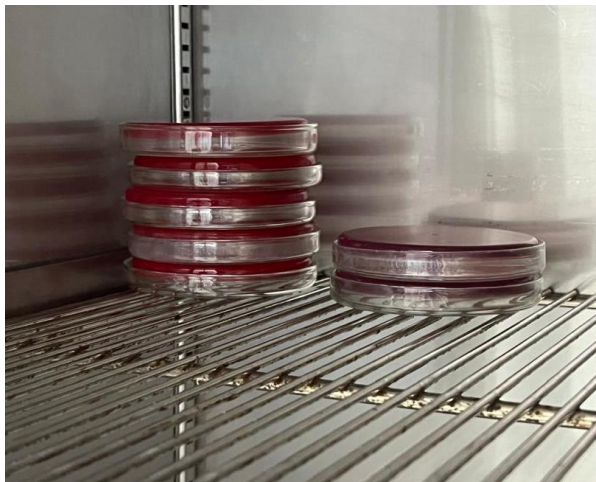


Imagen 12. Proceso de incubación.



Imagen 13. Incubadora de laboratorio .

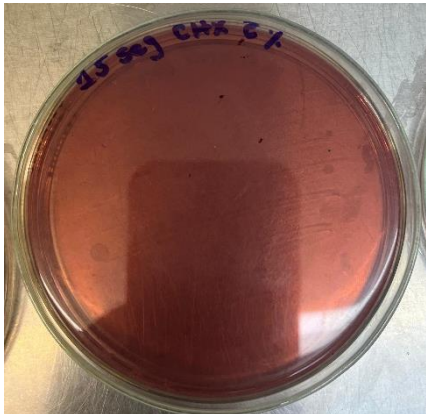


Imagen 14. Cultivo negativo en tiempo de 15 segundos agar MacConkey

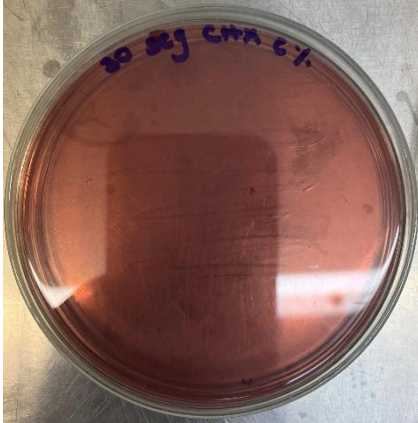


Imagen 15. Cultivo negativo en tiempo de 30 segundos agar MacConkey



Imagen 16. Cultivo negativo en tiempo de 30 segundos agar sangre



Imagen 17. Cultivo negativo en tiempo de 15 segundos agar sangre

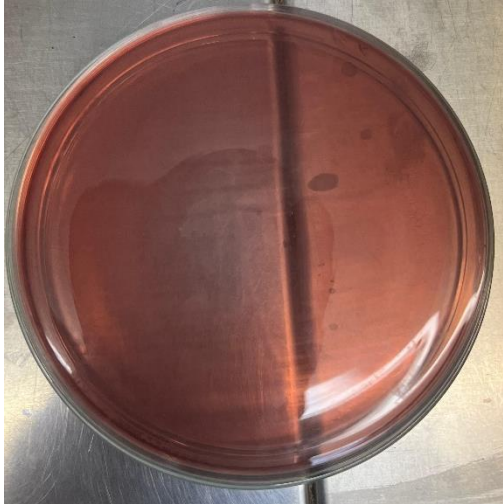


Imagen 18. Control Negativo agar MacConkey



Imagen 19. Cultivo negativo en agar sangre

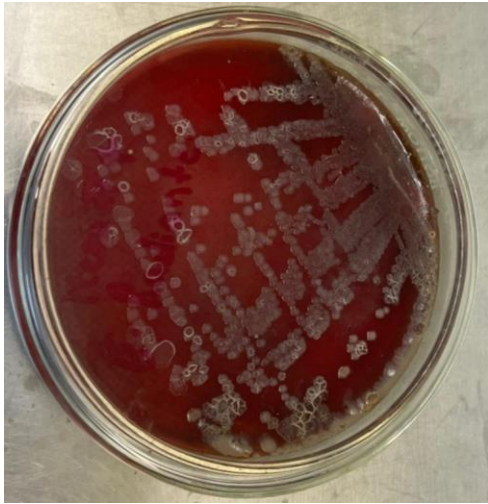


Imagen 20. Cultivo positivo en agar sangre



Imagen 21. Foto tomada con los integrantes del experimento. (Jheyson Castillo Chow, Luis Marin, Eugenio Pacheco)



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA



fecha	30/9/2024	EXP.	
nombre	ESTUDIO GUTAPERCHAS	apellido	
tipoexam	CULTIVO BACTERIOLOGICO		

RESULTADO:

CONTROL POSITIVO (SALIVA)

RESULTADO: +100 UFC EN 72 HORAS DE INCUBACION



FIRMA

Imagen 23. Resultados de laboratorio



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA



fecha	30/9/2024	EXP.	
nombre	ESTUDIO GUTAPERCHAS	apellido	
tipoexam	CULTIVO BACTERIOLOGICO (SOMETIDO A CLORHEXIDINA)		

RESULTADO:	CONTROL NEGATIVO (NaCl 0.85%)
	RESULTADO NO HUBO CRECIMIENTO BACTERIANO EN
	72 HORAS DE INCUBACION



FIRMA

Imagen 24. Resultados de laboratorio

	UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA-LEÓN DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA	
Fecha: 30 Septiembre. 2024		
CULTIVO BACTERIOLOGICO		
MUESTRA: GUTAPERCHA SOMETIDOS A CLORHEXIDINA 2%		
N° DE MUESTRA	RESULTADO	
01 (15 SEGUNDOS)	NO HUBO CRECIMIENTO EN 72 HORAS DE INCUBACION	
02 (30 SEGUNDOS)	NO HUBO CRECIMIENTO EN 72 HORAS DE INCUBACION	
03 (CONTROL +)	+100 UFC EN 72 HORAS DE INCUBACION	
04 (CONTROL -)	NO HUBO CRECIMIENTO EN 72 HORAS DE INCUBACION	
 Firma		

