



**Universidad Nacional
Federico Villarreal**

**Vicerrectorado de
Investigación**

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**EFFECTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL AGUA OZONIZADA A DIFERENTES
CONCENTRACIONES COMPARADO CON EL HIPOCLORITO DE SODIO EN CEPA DE
ENTEROCOCCUS FAECALIS INVITRO.**

Líneas de investigación: Biomateriales.

Tesis para obtener el Título Profesional de Cirujano Dentista

AUTORA

Valverde Gutierrez, Kimberly Antuanet

ASESOR

Esp. Caffo Geldres, Luis Alberto

JURADO

Dr. Liebano Segura, Renan Lázaro

Mg. Chuna Espinoza, Jorge Dante

Dra. Paucar Rodriguez de Granados, Elizabeth

Lima-Perú

2020

AGRADECIMIENTOS

Agradezco Dios que siempre estuvo a mi lado y no dejó que en ningún momento me rinda, a mi familia que confió en mí y me ayudó siempre a pesar de cualquier dificultad, especialmente a mis padres Fredy Valverde y Antonia Gutierrez, que siempre me incentivaron dándome su apoyo y cariño, a mis hermanas por ser tan comprensivas, brindándome los mejores consejos, a los maestros que me guiaron y apoyaron durante el proceso de la investigación, principalmente a mis asesores por toda su paciencia y apoyo, Esp. Luis Caffo Geldres, a mis jurados y especialmente Dra. Elizabeth Paucar de Granados, al Lic. Rocky Champi Merino del Hospital Nacional Hipólito Unanue, quien me brindó su ayuda en el análisis microbiológico, etapa esencial para el desarrollo de mi tesis, a la empresa Technology Care SRL. quienes confiaron en esta investigación brindándome el Generador de Ozono Médico y finalmente a todas las personas que me brindaron su ayuda a lo largo de todo este proceso de esta investigación que quedará por siempre grabado en mi corazón.

DEDICATORIA

Mi tesis, dedico a mis padres Fredy Valverde Ramírez y Antonia Gutierrez Aedo, por confiar en mí y apoyarme durante este largo camino, por enseñarme a luchar por mis objetivos a ser mejor cada día, tanto como persona como profesionalmente, los amo y siempre estaré agradecida con ellos.

ÍNDICE

Resumen

Abstract

I.	Introducción.....	1
1.1	Descripción y formulación del problema.....	2
1.2	Antecedentes.....	3
1.3	Objetivos.....	11
-	Objetivo General.....	11
-	Objetivos Específicos.....	12
1.4	Justificación.....	12
1.5	Hipótesis.....	13
II.	Marco Teórico.....	14
2.1	Bases teóricas sobre el tema de investigación.....	14
III.	Método.....	30
3.1	Tipo de investigación.....	30
3.2	Ámbito temporal y espacial.....	30
3.3	Variables.....	30
3.4	Población y muestra.....	31

3.5 Instrumentos.....	34
3.6 Procedimientos.....	34
3.7 Análisis de datos.....	36
3.8 Consideraciones éticas.....	36
IV. Resultados.....	38
V. Discusión de resultados.....	48
VI. Conclusiones.....	51
VII. Recomendaciones.....	52
VIII. Referencias.....	53
IX. Anexos.....	58
Anexo 1. Ficha de recolección de datos.....	58
Anexo 2. Ficha técnica de instrumento a utilizar.....	59
Anexo 3. Matriz de consistencia.....	69
Anexo 4. Autorización para realizar la investigación en el Hospital nacional Hipólito Unanue.....	70
Anexo 5. Fotografías.....	71

Resumen

Nuestra investigación, determino la efectividad antimicrobiana del agua ozonizada a diferentes concentraciones 16 y 40 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente, en cepas de *Enterococcus faecalis*, posteriormente los resultados fueron comparados con los obtenidos al utilizar hipoclorito de sodio al 2,5%. Materiales y métodos, se utilizaron 60 premolares uniradiculares, se realizó la apertura cameral, irrigación y esterilización en autoclave, se procedió a la inoculación de 10 μl del cultivo de la cepa de *Enterococcus faecalis* en caldo de infusión Cerebro Corazón (BHI), cada 48 horas por un periodo 21 días preservados en una incubadora a 37 c°. Fueron divididos en 4 grupos de 15 cada uno. Grupo A: suero fisiológico. Grupo B: agua ozonizada a 16 $\mu\text{g/ml}$. Grupo C: agua ozonizada a 40 $\mu\text{g/ml}$ y Grupo D: hipoclorito de sodio al 2,5%. Se prepararon e irrigaron los conductos con las respectivas sustancias, se tomaron las muestras del interior de los conductos con conos de papel, para posteriormente ser cultivados en un medio solido de agar BHI, en 60 placas Petri, a una temperatura de 37°C por un periodo de 48 horas, realizándose el conteo de colonias de *Enterococcus faecalis*. Resultados, se comprobó que el hipoclorito de sodio que presenta una eficacia antimicrobiana del 100%, el agua ozonizada de 16 y 40 $\mu\text{g/ml}$ no poseen diferencias significativas entre las dos concentraciones, se comprobó que el agua ozonizada posee una eficacia antimicrobiana del 40% frente al *Enterococcus faecalis*.

Conclusión: se comprobó, que el agua ozonizada presenta eficacia antimicrobiana.

Palabras clave: Agua ozonizada, *Enterococcus faecalis*, Hipoclorito de sodio.

Abstract

Our research determined the antimicrobial effectiveness of ozonated water at different concentrations 16 and 40 $\mu\text{g} / \text{ml}$ respectively, in *Enterococcus faecalis* strains, subsequently the results were compared with those obtained when using 2.5% sodium hypochlorite. Materials and, 60 uniradicular premolars were used, chamber opening, irrigation and sterilization in an autoclave were carried out, and 10 μl of the culture of the *Enterococcus faecalis* strain was inoculated in Cerebro Corazón infusion broth (BHI), every 48 hours for a period of 21 days preserved in an incubator at 37 ° C. They were divided into 4 groups of 15 each. Group A: physiological serum. Group B: ozonated water at 16 $\mu\text{g} / \text{ml}$. Group C: ozonated water at 40 $\mu\text{g} / \text{ml}$ and Group D: 2.5% sodium hypochlorite. The ducts were prepared and irrigated with the respective substances, the samples were taken from the interior of the ducts with paper cones, to later be cultured in a solid medium of BHI agar, in 60 Petri dishes, at 37 ° C for a period of 48 hours, performing the count of *Enterococcus faecalis* colonies. Results, it was verified that sodium hypochlorite that presents an antimicrobial efficacy of 100%, ozonized water of 16 and 40 $\mu\text{g} / \text{ml}$ there are no significant differences between the two concentrations, it was verified that ozonated water has an antimicrobial efficacy of 40% versus *Enterococcus faecalis*.

Conclusion: it was proven that ozonated water has antimicrobial efficacy.

Key words: Ozonated water, *Enterococcus faecalis*, Sodium hypochlorite.

I. Introducción

Existen algunos estudios encargados de evaluar y prevenir los tratamientos de conductos y la relación con algunos patógenos entre ellos el *Enterococcus faecalis*. Debido a ello, existe un gran interés de los investigadores por el estudio de las diferentes sustancias que tengan características farmacológicas antibacterianas. Son pocas las investigaciones y referencias bibliográficas sobre el uso actual de algunas sustancias, como el hipoclorito de sodio y el agua ozonizada usadas en el tratamiento de conductos. En la presente investigación, el objetivo es evaluar el efecto antimicrobiano del agua ozonizada en diferentes concentraciones comparado con el hipoclorito de sodio al 2,5%, para ser utilizado como medio alternativo en el tratamiento de conductos con ápices abiertos o necróticos, sin causar efectos colaterales, frente a cepas de *Enterococcus faecalis* invitro.

En las investigaciones se abordan los aspectos de efectividad antimicrobiana, utilizando el conteo de unidades formadoras de colonias de *Enterococcus faecalis* en un tiempo determinado y el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio y el agua ozonizada. El hipoclorito de sodio en la actualidad es la sustancia más utilizada en cuanto a irrigantes, pero también la más toxica utilizada en concentraciones elevadas.

Para realizar el conteo de unidades formadoras de colonias, las piezas dentarias utilizadas que participan en las investigaciones pasan por un proceso de inoculación de las cepas, crecimiento de bacterias a 37c°, en un tiempo determinado y posterior recuento de colonias. Los resultados obtenidos nos indican la eficacia del agua ozonizada, comparado con el hipoclorito de sodio.

Se elaboran bases de datos, analizados en diferentes programas estadísticos. Los resultados se analizan y discuten, comprobándose los objetivos e hipótesis planteadas en las que se indica que

el agua ozonizada pudo erradicar las bacterias dentro de los conductos, demostrando que posee eficacia antimicrobiana comparado con el hipoclorito de sodio.

De acuerdo a lo descrito en los párrafos anteriores me permito plantear la descripción y formulación del problema.

1.1 Descripción y formulación del problema

Existen algunos estudios similares a nuestra investigación como estudio como el de Haapasalo, Qian & Shen (2012) quienes aseguraron que el éxito de los tratamientos en la endodoncia depende de muchos factores, siendo uno de ellos la erradicación de los microorganismos dentro de los conductos radiculares y periapice, así como también de la prevención de una posible reaparición de las patologías que estos originan.

Stuart, Schwartz, Beeson & Owatz (2006), afirman que el *Enterococcus faecalis* es un organismo persistente del sistema de conductos radiculares y frecuentemente se encuentra en los conductos con infección pulpar.

Haapasalo, Endal, Zandi & Coil (2005) opinan que es importante realizar una correcta instrumentación del sistema de conductos radiculares, sin embargo, la instrumentación no es eficaz si no se complementa con soluciones irrigadoras.

Donika *et al.* (2014) confirman que un irrigador ideal del conducto radicular, debe ser biocompatible con los tejidos periodontales por estar muy cercanos, durante el tratamiento endodóntico. Sin embargo, todos los irrigantes probados mostraron algún nivel de citotoxicidad hacia los tejidos, y estos efectos dependieron del tiempo y concentración.

Carson, Goodell & McClanahan (2005) afirman que entre todos los irrigantes disponibles en el mercado, usados como irrigadores del conducto radicular el más efectivo es el hipoclorito de

sodio, por sus efectos antibacterianos y su capacidad para disolver los tejidos orgánicos. Esta solución está disponible en concentraciones que varían de 0.5 a 5.25%, donde las concentraciones más altas tienen mejor eficacia antibacteriana.

Siqueira, Rôças, Favieri & Lima (2000) demuestran que a mayor concentración de hipoclorito presentan mayor toxicidad. Frente a esta problemática, múltiples estudios han comenzado a buscar alternativas biocompatibles con los tejidos y menos tóxicas como el caso del ozono.

Nogales, Bertoli, Lage & Antonazzi (2014) hicieron un estudio para comparar la actividad antimicrobiana de las tres concentraciones diferentes de ozono en *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*. Concluyen que el ozono acuoso en concentración de 8 µg /mL fue el de mayor eficacia para eliminar las tres bacterias evaluadas.

Sin embargo, aún queda mucho por investigar sobre esta alternativa.

En concordancia con los párrafos anteriores me permito formular el siguiente problema:

¿Cuál es la efectividad antimicrobiana del agua ozonizada utilizada a diferentes concentraciones 16 y 40 µg/ml comparado con el hipoclorito de sodio sobre cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. In vitro?.

Frente a esta problemática en el tratamiento de conductos, existen pocos estudios entre ellos:

1.2 Antecedentes

Bialoszewski *et al.* (2011) realizaron una investigación sobre la acción del ozono en biofilms bacterianas. El objetivo del estudio fue comparar la actividad de la bacteria con agua ozonizada y otra con ozono gaseoso. Se tomaron dieciocho cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, que muestran diversos niveles de sensibilidad a los antibióticos. Las bacterias se cultivaron en biofilms en placas de titulación de poliestireno durante períodos de 2 a 72 horas, Los biofilms formados se expusieron a agua ozonizada, producida en un

dispositivo. Las células vivas en la biopelícula se tiñeron con una solución de bromuro. Resultados, demostraron que el agua ozonizada es un agente bactericida eficaz contra el biofilm, después de tan solo 30 segundos de su exposición, sin embargo, observaron que el ozono gaseoso presentaba mayor actividad antibacteriana.

Sadatullah, Mohamed & Razak (2012) evaluaron el efecto de 0,1 ppm de agua ozonizada en muestras de placa supragingival de 24 horas in situ. Esta placa fue recolectada de los dientes posteriores, antes y después de un enjuague de 30 segundos con agua destilada (grupo de control) 0.1 ppm de agua ozonizada (grupo de prueba), Encontraron que el número total de bacterias, *Streptococcus mutans* y *Candida albicans* en medios de agar selectivos. El análisis estadístico del número de unidades formadoras de colonias obtenidas demostró un efecto antimicrobiano importante del agua ozonizada sobre las bacterias totales ($p = 0,01$) y anaerobios ($p = 0,02$). También se observaron una reducción en el recuento de unidades formadoras de colonias después del enjuague para *Streptococcus mutans*, pero el efecto no fue estadísticamente significativo ($p = 0,07$). La especie de *Candida* solo creció a partir de una muestra. Entre los resultados demostraron que el agua ozonizada a la concentración de 0,1 ppm fue efectiva para reducir la carga de bacterias de la placa en un periodo de 24 horas, pero no las eliminó por completo.

Hubbezoglu, Zan, Tunc & Sumer (2014) evaluaron y compararon, el efecto antibacteriano del ozono acuoso con diferentes concentraciones y técnicas de aplicación (manual y ultrasónica) contra *Enterococcus faecalis* en los conductos radiculares humanos. Utilizaron, ochenta dientes premolares mandibulares uniradiculares, que fueron seleccionados, preparados y esterilizados. El *Enterococcus faecalis* de los conductos radiculares se incubó en BHI y se mantuvo a 37 °C durante 24 h. Los dientes se dividieron en cuatro grupos principales, cada uno con 20 miembros:

el primer grupo con hipoclorito de sodio (control positivo), el segundo grupo con ozono acuoso de 8 ppm, el tercer grupo de ozono acuoso de 12 ppm y el cuarto grupo con ozono acuoso de 16 ppm. La mitad de las muestras las desinfectaron con ozono acuoso por la técnica manual, la otra mitad se desinfectó con el ozono acuoso, por la técnica ultrasónica el procedimiento lo realizaron 180 segundos para asegurar la estandarización de todos los grupos de trabajo. Los puntos de papel (colocados en los conductos radiculares antes y después de los procedimientos de desinfección), se transfirieron a tubos Eppendorf que contenían 0,5 ml de caldo. Luego, se inocularon 50 μ L de la suspensión en medio caldo de agar. Como resultado de este estudio, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre NaOCl y el ozono acuoso aplicado por la técnica manual ($P < 0.05$). Además, hubo diferencias estadísticamente significativas entre las diferentes concentraciones de ozono acuoso con los grupos de técnica manual ($P < 0.05$). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre hipoclorito de sodio y 16 ppm de ozono acuoso aplicado con la técnica ultrasónica ($P > 0.05$). Encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre estos dos grupos y los otros grupos acuosos de ozono con la técnica ultrasónica ($P < 0.05$). Aunque hubo diferencias estadísticamente significativas entre todos los grupos acuosos de ozono, con las técnicas manual y ultrasónica ($P < 0.05$). concluyen que la actividad bactericida fue alta en concentración de ozono acuoso 16 ppm, comparado con la combinación de la técnica de aplicación ultrasónica que mostró similar eficacia con el hipoclorito de sodio al 5,25%.

Noites *et al.* (2014) realizaron un estudio con el propósito de demostrar que el uso del hipoclorito de sodio y clorhexidina, solos o en combinación con el ozono gaseoso, eran efectivos contra *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*. Utilizaron, 220 dientes uniradulares recientemente extraídos, fueron inoculados con *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis*. Las

sustancias utilizadas, fueron hipoclorito de sodio a 1, 3 y 5%, clorhexidina al 0.2% y 2% y aplicaron el gas de ozono durante diferentes períodos de tiempo. También evaluaron la combinación de hipoclorito de sodio al 5% y clorhexidina al 2%, con ozono gaseoso. Con respecto a *Candida albicans*, el hipoclorito de sodio al 5% fue significativamente eficaz comparado al 1% ($P < 0.05$), mientras que al 3% no fue significativamente mejor que 1% ($P = 0.343$). Con respecto al riego con clorhexidina, en concentración de 0.2% tuvo una actividad antimicrobiana mínima, contra ambos microorganismos. La clorhexidina al 2% fue muy eficiente para la *Candida albicans*, que fue significativamente mejor que el 0.2% ($P < 0.001$).

Para *Enterococcus faecalis* la clorhexidina al 2% fue totalmente ineficiente. La aplicación de ozono gaseoso durante períodos cortos (24 y 60 segundos) no fue suficiente para eliminar a la *Candida albicans* y al *Enterococcus faecalis*. El hipoclorito al 5% combinado con ozono, incluso en el tiempo máximo (180 s), no mostró diferencias significativas con respecto a los tratamientos aislados. Sin embargo, los resultados indicaron una gran actividad antimicrobiana con clorhexidina al 2% seguido de ozono gaseoso solo en un periodo de 24 segundos, con una eliminación completa de *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis*. Concluyen que este nuevo protocolo de desinfección, que combina el riego con clorhexidina al 2% y el gas de ozono durante 24 segundos, puede ser una ventaja en el tratamiento de los conductos infectados.

Nogales *et al.* (2014) compararon la actividad antimicrobiana de las tres diferentes concentraciones de ozono acuoso en *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*. En el estudio utilizaron una suspensión estandarizada de 3 bacterias. Estas suspensiones fueron cultivadas y espectrofotométricamente. Luego fueron enviadas a grupos: Grupo I - ozono acuoso 2 $\mu\text{g} / \text{mL}$; Grupo II - ozono acuoso 5 $\mu\text{g} / \text{ml}$; Grupo III - ozono acuoso 8 $\mu\text{g} / \text{ml}$ y grupo control - agua estéril fría y bidestilada sin ozono. El agua estéril fría bidestilada

se ozonificó durante 5 minutos. Luego añadieron 10 ml de cada suspensión a 90 ml de cada grupo en un matraz de vidrio. Después de 1 minuto de contacto, añadieron 1 ml de cada matraz a 9 ml de tiosulfato de sodio al 0,1% para neutralizar el ozono, y luego realizaron una dilución en serie. Después de 24 horas de incubación, realizaron el recuento de unidades formadoras de colonias. Paralelamente, añadieron 1 ml de cada matraz de vidrio a 9 ml de caldo y se incubó durante 7 días, para posteriormente realizar un análisis visual del caldo de turbidez. Los resultados mostraron que el Grupo I presentaba crecimiento de *Enterococcus faecalis*. Los grupos II y III no presentaron recuento de unidades formadoras de colonias, pero el ozono acuoso a 5 µg / ml presentó 2 tubos de *Enterococcus faecalis*, lo que indica crecimiento bacteriano. El grupo III (ozono acuoso 8 µg / ml) no mostró recuento de unidades formadoras de colonias ni caldo borroso. concluyeron que el ozono acuoso en concentración de 8 µg/ mL fue el más eficiente para eliminar las tres bacterias evaluadas.

Anand, Ebenezer, Anand, Mary & Mony (2015) evaluaron comparativamente la propiedad antibacteriana del agua ozonizada, el vino blanco (14%) y el vino blanco desalcoholizado. se subcultivaron y se inocularon *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis* en un caldo nutriente durante 24 horas. Se formaron los siguientes grupos: Grupo 1A: clorhexidina al 2% (grupo de control); Grupo 1B: vino blanco; Grupo 1C: vino blanco desalcoholizado; Grupo 1D: agua ozonizada; Grupo 2A: Ca (OH) 2 + clorhexidina (grupo de control); Grupo 2B: vino blanco + Ca (OH) 2; Grupo 2C: vino blanco des-alcoholizado + Ca (OH) 2 + clorhexidina; Grupo 2D: vino blanco + Ca (OH) 2 + clorhexidina y grupo 2E: vino blanco desalcoholizado + Ca (OH) 2 + clorhexidina. Dejaron que las muestras se difundieran en el medio de cultivo durante dos horas, luego sembraron en estrías las *S. mutans* en el medio de agar sangre y el *Enterococcus faecalis* en el medio de agar Muller Hilton y se incubaron durante 48

horas a 37°C, los halos de inhibición los midieron después de 48 horas. Como resultados, no observaron crecimiento de microorganismos con agua ozonizada. La clorhexidina mostró una gran zona de inhibición en comparación con los otros grupos. El vino blanco tiene una mejor propiedad antimicrobiana que el vino blanco desalcoholizado, pero cuando se mezcla con hidróxido de calcio, el vino blanco desalcoholizado tiene una mejor acción contra los microorganismos. En conclusión, el agua ozonizada tiene la mejor propiedad antibacteriana y la acción antibacteriana del hidróxido de calcio mejora cuando se mezcla con vino blanco desalcoholizado.

Nogales *et al.* (2016) evaluaron la eficacia antimicrobiana de la ozonoterapia en dientes contaminados con *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus* utilizando un modelo de biofilms monoespecie. Paralelo a esto, el estudio tuvo como objetivo evaluar la citotoxicidad del ozono para los fibroblastos gingivales humanos. Ciento ochenta dientes uniradiculares se contaminaron con una biopelícula de monoespecie de *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. Formaron grupos: Grupo I - control; Grupo II - protocolo estándar; Grupo III: protocolo estándar + gas ozono a 40 µg / ml; y Grupo IV - protocolo estándar + ozono acuoso a 8 µg / ml. En paralelo, los fibroblastos gingivales humanos se sometieron a la prueba (MTT). Las células se sembraron en placas, luego se aplicó ozono de la siguiente manera: Grupo I (control) - caldo medio; Grupo II: ozono acuoso a 2 µg / ml; Grupo III - ozono acuoso a 5 µg / ml; y Grupo IV - ozono acuoso a 8 µg / ml. Los datos fueron enviados a la prueba de Kruskal Wallis y al análisis *post hoc* de *Bonferroni* donde evaluaron la microbiología y la citotoxicidad, respectivamente ($p < 0,05$). Los resultados revelaron la eficacia antimicrobiana del Grupo IV sin recuento de unidades formadoras de colonias. El ensayo de citotoxicidad mostró que los grupos III y IV son los más

agresivos, proporcionando una disminución en la viabilidad celular en la hora 0 de 100% a 77.3% y 68.6%, respectivamente. Dicha disminución en la viabilidad celular se revirtió, y después de 72 horas los grupos III y IV proporcionaron el mayor aumento en la viabilidad celular, siendo estadísticamente diferentes de los grupos I y II. Concluyen que la ozonoterapia mejoró la descontaminación del conducto radicular *ex vivo*. El ozono fue tóxico para las células en el primer contacto, pero se recuperó la viabilidad celular. Por lo tanto, estos hallazgos sugieren que el ozono podría ser útil para mejorar los resultados del tratamiento de conducto.

Camacho, Salmerón & Martínez (2017) realizaron un estudio con el propósito de evaluar el efecto antibacteriano de la terapia fotodinámica, clorhexidina, pasta triantibiótica y ozono. Los dientes fueron contaminados con 0.1 mL de *Enterococcus faecalis* y aleatorizados en ocho grupos de tratamiento: Grupo 1 (2.5% hipoclorito de sodio); Grupo 2 (terapia fotodinámica); Grupo 3 (clorhexidina al 2%); Grupo 4 (pasta triantibiótica); Grupo 5 (propóleo), Grupo 6 (ozono), Grupo 7 (control positivo) y Grupo 8 (control negativo). Después del tratamiento, tomaron muestras del contenido del canal. Las muestras se cultivaron por triplicado en placas de agar sangre, para determinar el número de unidades formadoras de colonias/ ml. El recuento de *Enterococcus faecalis* en los conductos radiculares, calculado como UFC / ml, fue cero en el grupo de control negativo. El grupo de control positivo mostró el mayor número de unidades formadoras de colonias por mililitro 6.11 ± 0.85 CFU / mL, con diferencias estadísticamente significativas en comparación con los seis grupos de tratamiento ($p < 0.05$). El grupo de propóleos obtuvieron valores más altos que el hipoclorito de sodio al 2,5% y la clorhexidina al 2%. El grupo con el conteo más bajo de unidades formadoras de colonias UFC / mL fue el ozono, que obtuvo valores similares al grupo de la terapia fotodinámica. El grupo de hipoclorito al 2.5% mostró el porcentaje más bajo de área contaminada. Las aplicaciones de la

terapia fotodinámica, 2% de clorhexidina, pasta triantibiótica, propóleo y ozono mostraron un potencial antibacteriano similar al hipoclorito al 2,5%. En conclusión, los demás agentes utilizados poseen un potencial similar al del hipoclorito de sodio.

Pinheiro *et al.* (2018) El objetivo de este estudio es evaluar la eficacia antimicrobiana del hipoclorito de sodio al 2,5%, clorhexidina al 2%, y agua ozonizada en biofilms de *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, y *Candida albicans* en canales de la raíz mesiovestibular con curvatura severa de molares mandibulares. Este fue un estudio experimental *ex vivo* en laboratorio microbiológico. Sesenta conductos radiculares mesiobucles con curvatura grave de los molares mandibulares estaban contaminados con cepas estándar de *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans* y *Candida albicans*. Las muestras fueron divididas aleatoriamente en cuatro grupos de acuerdo con la solución de irrigación: hipoclorito de sodio al 2,5%; clorhexidina al 2%; agua ozonizada; y control: agua doblemente destilada. Los conductos radiculares mesiobucles de todos los grupos se instrumentaron con el sistema recíproco WaveOne Gold Primary. Realizaron tres ciclos de instrumentación con tres movimientos cortos de cepillado dentro y fuera: en el tercio coronal, en el tercio medio y en el tercio apical del canal. Utilizaron un análisis de varianza de una vía seguido por la prueba de comparación múltiple de Tukey. Todos los grupos mostraron una reducción significativa de la biopelícula después del riego ($P < 0.01$). Después de la instrumentación, el hipoclorito de sodio (98,07%), la clorhexidina (98,31%) y el agua ozonizada (98,02%) produjeron una reducción significativa en los conteos bacterianos en comparación con el agua. En conclusión, todos los irrigantes probados en este estudio mostraron una actividad antimicrobiana similar. Por lo tanto, el agua ozonizada puede ser una opción para la reducción microbiana en el sistema de conductos radiculares.

Öter, Topçuoğ, Tanque & Çehreli (2018) realizaron un estudio para evaluar la eficacia antibacteriana de Endosafe, desinfección fotoactivada, láser de diodo, ozono, y las aplicaciones de hipoclorito de sodio en los conductos radiculares primarios que se infectaron con *Enterococcus faecalis*, después de la instrumentación mecánica estándar. Utilizaron raíces de 100 dientes molares primarios humanos, que se extrajeron debido a la caries excesiva. Las raíces se dividieron en 5 grupos con 15 raíces en cada protocolo de desinfección de la raíz. Además, 15 muestras y 10 muestras sirvieron como controles positivos y negativos, respectivamente. Se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk, la prueba de Kruskal-Wallis y luego las comparaciones de grupos post hoc con la prueba U de Mann-Whitney ajustada por Bonferroni (observaciones no apareadas). El hipoclorito de sodio (NaOCl) exhibió el mayor efecto antibacteriano (0 unidades formadoras de colonias por ml). La irradiación con láser de diodo fue estadísticamente más efectiva que los grupos de ozono, PAD y Endosafe ($p < 0,001$). Los grupos Endosafe, desinfección fotoactivada y ozono mostraron un efecto antibacteriano similar ($p > 0,05$). Aunque no fue estadísticamente significativo, Endosafe fue el de mayor eficacia en la reducción del recuento bacteriano en comparación con el ozono y la desinfección fotoactivada. Los cinco sistemas de riego probados demostraron ser efectivos en la desinfección de los conductos radiculares primarios contaminados con *Enterococcus faecalis* y los mejores resultados se obtuvieron con el hipoclorito de sodio al 2,5% y láser de diodo.

1.3 Objetivos

Objetivo General

- Comparar la efectividad antimicrobiana del agua ozonizada a 16 $\mu\text{g/ml}$ y 40 $\mu\text{g/ml}$ frente al hipoclorito de sodio al 2,5% en la inhibición de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Objetivos Específicos

1. Identificar la actividad antimicrobiana del agua ozonizada al 16µg/ml frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.
2. Identificar la actividad antimicrobiana del agua ozonizada a 40 µg/ml frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.
3. Comparar la actividad antimicrobiana entre la concentración al 16 µg/ml y 40 µg/ml de agua ozonizada frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.
4. Identificar la actividad antimicrobiana del suero fisiológico frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.
5. Comparar la actividad antimicrobiana entre suero fisiológico y cada una de las concentraciones 16 µg/ml y 40 µg/ml de agua ozonizada.
6. Identificar la actividad antimicrobiana del hipoclorito 2,5% frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

1.4 Justificación

Teórica: Nos brinda un mayor conocimiento, sobre una nueva sustancia irrigante que posee poder bactericida y es biocompatible. Debido a que las sustancias usadas en actualidad tienen efectos ventajosos, pero a la vez son de alta toxicidad, registrados en tratamientos endodónticos causando necrosis por infiltración. Por ello tomamos en cuenta al ozono ya que se obtuvo evidencia científica, que comprueba su efecto antibacteriano, biocompatibilidad y no daña a los tejidos.

Metodológica: Los procedimientos a los cuales estamos acostumbrados cambiarían radicalmente con la implementación de esta sustancia.

Practica: Mediante el uso del ozono, se evitarían los accidentes causados por infiltración y toxicidad a nivel de los tejidos en los tratamientos endodónticos.

Social: Los procedimientos serían confiables para los pacientes con la aplicación de esta sustancia.

1.5 Hipótesis

Si el agua ozonizada tiene propiedades antimicrobianas, es probable que sea más efectiva frente al *Enterococcus faecalis* y menos dañina para los tejidos que el hipoclorito de sodio.

II. Marco Teórico

2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación

2.1.1 Endodoncia

La endodoncia es ciencia y es arte, comprende la etiología, prevención, diagnóstico y tratamiento de las alteraciones patológicas de la pulpa dentaria y de sus repercusiones en la región apical y por consiguiente en el organismo. La región apical y periapical comprende los tejidos de sustentación del diente que incluyen y rodean al ápice radicular y que son: límite CDC, conducto cementario, muñón pulpar, cemento, foramen, membrana (espacio) periodontal, paredes y hueso alveolar (Leonardo, 2005, p.9).

La cavidad pulpar es una zona ocupada por la pulpa dental cubierto en su totalidad por dentina, a excepción de la zona ubicada junto al foramen apical, está dividida en dos, primero la cámara pulpar y luego el conducto radicular. La cámara pulpar es la porción coronaria de la cavidad pulpar, es única y está ubicada en el centro de la corona y aloja la pulpa coronaria; posee límites, techo que es la pared oclusal o incisal presentada de forma cóncava hacia oclusal o incisal y prominencias dirigidas hacia las puntas de las cúspides llamadas cuernos pulpares. Piso que es la pared cervical donde están ubicadas las entradas a los conductos, paredes laterales que son las caras que se encuentran dirigidas hacia las caras vestibular, lingual, palatina, mesial o distal (Goldberg y Soares, 2003).

El conducto radicular es la zona que se inicia por el piso y termina en el foramen apical presentando forma cónica con el vértice ubicado en el foramen y la base mayor en el piso de la cámara pulpar. El conducto radicular puede ser dividido en tres tercios cervical, medio y apical. Diversos estudios demostraron que el conducto principal presenta numerosas ramificaciones que

reciben el nombre de: conductos colaterales, laterales o adventicios, secundarios, interconducto, recurrente, delta apical y cavo interradicular (Goldberg y Soares, 2003).

Cuando los microorganismos llegan afectar la cámara pulpar, existen dos tratamientos los conservadores y radicales, entre los tratamientos conservadores están, el curetaje pulpar, la protección pulpar directa e indirecta y la pulpotomía; mientras que en el tratamiento radical la pulpectomía, que consiste en la remoción del tejido orgánico y creación de condiciones morfológicas dimensionales para una obturación correcta, en los dientes con pulpa necrosada, también busca la eliminación de los microorganismos; para la preparación es importante el uso de soluciones irrigadoras que ayuden a la conformación y a la desinfección del sistema de conductos (Goldberg y Soares, 2003).

2.1.2 Anatomía de los premolares uniradiculares

El segundo premolar superior posee un aspecto cuboide con dos cúspides una vestibular y una palatina, en el 95% de los casos presenta una sola raíz por ello es muy común que posea un solo conducto achatado en sentido mesiodistal y amplio en sentido vestibulopalatino, el conducto no posee dificultad para el tratamiento, sin embargo, a pesar de poseer una sola raíz puede tener dos conductos y ramificaciones. Posee una longitud media de 21,8 milímetros (Goldberg y Soares, 2003).

El primer premolar inferior presenta una corona cuboide y posee dos cúspides, suele presentar una sola raíz ovoide y achatada en sentido mesio distal, algunas veces a nivel del tercio apical puede presentar una división (vestibular y lingual), rara vez puede presentar hasta tres raíces una lingual y dos vestibulares. La cámara pulpar posee forma cuboide. Cuando el conducto radicular es único es de fácil acceso teniendo una forma ovoide en los dos primeros tercios del conducto y tomando una forma circular en el tercio apical, si presenta tres raíces posee un difícil acceso,

debido a que presenta conductos estrechos y divergentes, presenta una longitud de 21,6 milímetros y un porcentaje de 66,6% de presentar un solo conducto (Goldberg y Soares, 2003).

Segundo premolar inferior es muy similar anatómicamente al primer premolar, con la diferencia que posee un solo conducto en un 89.3% con una longitud de 22.1 milímetros (Goldberg y Soares, 2003).

2.1.3 Microbiología Endodóntica

2.1.3.1 Vías de infección del conducto radicular

En condiciones normales el complejo dentino pulpar es estéril y están aislados de los microorganismos que se encuentran en la cavidad bucal, por el cemento y el esmalte. Existen circunstancias en las que se pierde esta integridad debido a caries, fracturas, tratamientos restauradores, raspados y alisados desgaste o abrasión, o debido a que la unión cemento esmalte se ubica muy superficialmente, esto ocasiona que el complejo dentino pulpar quede expuesto y se puedan provocar infecciones, además estos microorganismos también pueden ingresar por conductos laterales o apicales, por biopelículas subgingivales asociadas a enfermedades periodontales, los microorganismos pueden ingresar por los túbulos dentinarios, exposición pulpar directa, enfermedades periodontales y anacoresis (Torabinejad y Walton, 2010).

2.1.3.2 Tipos de infecciones endodónticas

Se pueden dividir en intraradiculares como las primarias secundarias o persistentes que, además, varían del tiempo en el que los microorganismos se encuentren dentro del conducto y extraradiculares. Las infecciones intraradiculares primarias se colonizan inicialmente del tejido pulpar necrosado formando una infección inicial esas están caracterizadas por poseer de 10 a 30 especies bacterianas y 10^3 a 10^8 células bacterianas por cada conducto, predominando bacterias

anaerobias, pero también se pueden encontrar especies facultativas y microaerofilicas (Torabinejad y Walton, 2010).

Las infecciones secundarias son producidas por aquellos microorganismos que han accedido a los conductos radiculares después de una intervención profesional. Las bacterias ingresan durante el tratamiento e incluso después de la obturación. Existen también infecciones persistentes que pueden resistir a los tratamientos y soportar periodos largos de privación nutricional son también llamados infecciones recurrentes, están asociadas a un gran número de bacterias Gram positivas facultativas o anaerobias, también se pueden encontrar hongos, estos pueden provocar problemas clínicos como exudados, síntomas persistentes con aparición de una periodontitis apical postratamiento. Las infecciones extraradiculares están caracterizadas por el crecimiento abundante de microorganismos en los tejidos periradiculares inflamados (Torabinejad y Walton, 2010).

El carácter polimicrobiano en las infecciones endodóncicas, posee un predominio marcado de bacterias anaerobias estrictas en las infecciones primarias. Entre las bacterias Gram negativas son los microorganismos más encontrados en las infecciones endodoncias primarias, se pueden encontrar especies que pertenecen a diferentes géneros de bacterias gramnegativas en la mayoría de infecciones primarias asociadas a diferentes formas de periodontitis apical, e incluso abscesos (Torabinejad y Walton, 2010).

Entre estos géneros se encuentran *Dialister* (p.ej., *T.denticola* y *T.socranskii*), *Fusobacterium* (p.ej., *F.nucleatum*), *porphyronomas* (p.ej. *P. endodontalis* y *P.gingivalis*), *prevotella* (p.ej. *P. intermedia*, *P. nigrescens* y *P. tannesaie*) y *Tannerella* (p.ej. *T.forsythia*), también se pueden encontrar bacterias grampositivas en la flora mixta endodóntica, entre las más frecuentes están *Pseudoramibacter*(p.ej., *P.alactolyticus*), *filifactor* (p.ej. *F.alocis*), *micromonas* (p.ej. *M.micros*),

Peptostreptococcus (p.ej., *P. anaerobias*), *Streptococcus* (p.ej., *P. anaerobius*), *streptococcus* (p.ej., *S. anginosus*), *Actinomyces* (p.ej., *A. israelii*), *Olsenella* (p.ej., *O. uli*) y *propionibacterium* (p.ej., *P. propionicum* y *P. acnes*). También se pueden encontrar otros organismos como hongos y virus (Torabinejad y Walton, 2010).

Cabe mencionar que hay microorganismos que pueden sobrevivir a los efectos antimicrobianos producidos por los materiales de obturación, alcanzar un número importante y demostrar suficiente virulencia para mantener constante la inflamación de los tejidos periradiculares. Tras el tratamiento endodóncico son pocas las bacterias gramnegativas que llegan a existir, estas son habituales en las infecciones primarias, mientras que las bacterias grampositivas aún se pueden observar en mayor número en muestras obtenidas tras la instrumentación y medicación tenemos (p.ej., estreptococos, lactobacilos, *Enterococcus faecalis*, *O. uli*, *M. micros*, *P. alactolyticus* y *Propionobacterium*). Mientras que también existen bacterias en dientes ya tratados, siendo un grupo más restringido de tres especies por conducto; entre ellos *E. faecalis*, es un coco Gram positivo anaerobio facultativo encontrado en un 30% a 90% en los dientes tratados; los hongos como *C. albicans* solo se encuentran en un 3% a 18%; estos dos microorganismos poseen características que pueden permitirles sobrevivir en los conductos tratados, como la resistencia a los fármacos dentro del conducto, la formación de biopelículas, invasión de los túbulos dentinarios y soportar periodos extensos de falta de nutrientes (Torabinejad y Walton, 2010).

2.1.4 Fisiopatología de la enfermedad pulpar

El tejido pulpar reacciona ante diversos irritantes externos principalmente bacterianos, desencadenando un proceso inflamatorio, como cualquier otro tejido conjuntivo del organismo. En función de la intensidad y duración de los irritantes y la resistencia del huésped, la patología puede variar desde una inflamación temporal o pulpitis reversible hasta

una inflamación grave y progresiva, o pulpitis irreversible, que evolucionara hacia la necrosis (Canalda y Brau, 2006, p.61).

2.1.4.1 Pulpitis reversible

La pulpitis reversible es la inflamación pulpar que presenta capacidad repararse. Es la principal respuesta inflamatoria frente a diversos irritantes externos que, si es diagnosticada y tratada preventivamente, puede recuperarse. Su patogenia está determinada por caries que son poco profundas con exposición de túbulos dentinarios, por tallados protésicos, lesiones no careógenicas, factores de irritación externos entre otros, capaces de provocar un proceso inflamatorio pulpar reversible, las bacterias son los principales implicados en esta alteración pulpar. La existencia de microorganismos en los estratos más profundos del complejo pulpodentinario provoca que el tejido pulpar libere mediadores químicos de la inflamación, principalmente los que derivan del metabolismo del ácido araquidónico (prostaglandinas, leucotrienos, tromboxanos), induciendo el aumento de la permeabilidad capilar (Canalda y Brau, 2006).

2.1.4.2 Pulpitis irreversible

La pulpitis irreversible es la inflamación pulpar sin capacidad de que pueda recuperarse, a pesar de que no existan estímulos externos que provoquen el estado inflamatorio. Los productos tóxicos enzimáticos y metabólicos ingresan antes que los microorganismos la cantidad de ellos depende de muchos factores como su ubicación en la cavidad pulpar, necesidad de nutrientes, factores de oxidación, entre otros, la fuente de nutrición para las bacterias está dada por los fluidos celulares y residuos de la descomposición de la pulpa. Las bacterias sacarolíticas de rápido crecimiento utilizan glúcidos, liberando ácido láctico y fórmico. Existen 2 formas clínicas en base a la aparición de sintomatología (Canalda y Brau, 2006).

2.1.4.2.1 Pulpitis irreversible sintomática

Es la respuesta inflamatoria aguda por la persistencia y crecimiento de las bacterias en la cavidad pulpar. Existen dos formas de aparición clínica: las serosas, con o sin afectación periapical, y las purulentas (Canalda y Brau, 2006).

Su patogenia mayormente es consecuencia de una pulpitis reversible que no ha sido tratada, las bacterias ingresan directamente a la pulpa, anteriormente alterada. La colonización del tejido conjuntivo pulpar agrava la respuesta inflamatoria desencadenando pulpitis reversibles. Esta reacción que es inicialmente de defensa, está dada por la liberación intensa de mediadores químicos de la inflamación, que provocan una reducción de las proteínas plasmáticas, marginación de los leucocitos polimorfonucleares y leucodiapédesis. El diferente gradiente de presión osmótica, ocasionado por la reducción de proteínas plasmáticas, origina la trasudación de plasma al estroma pulpar. produciéndose un edema intersticial incrementando la presión dentro de la pulpa que, al comprimir las fibras nerviosas origina un dolor muy intenso, y espontaneo. Por otro lado, la hiperemia pulpar aumenta y la circulación sanguínea es más lenta. La estasis venosa facilita la formación de edema, por lo que aumenta el dolor. Si el edema encuentra una vía de salida a través de la caries o de los túbulos dentinarios, la inflamación puede ser de forma asintomática y causar sintomatología cuando se haya obstruido la cavidad (Canalda y Brau, 2006).

2.1.4.2.2 Pulpitis irreversible asintomática

La pulpitis irreversible asintomática es la inflamación de la pulpa sin capacidad de recuperación y con ausencia de sintomatología aguda. Suele ser consecuencia de una pulpitis sintomática no tratada en la que la fase aguda ha cedido, o bien de que los agentes irritantes externos obedecen a estímulos leves o moderados, pero mantenidos en el tiempo, ya que los

elementos celulares defensivos pulpares son capaces de neutralizar la agresión bacteriana, por lo que siempre ha permanecido asintomática (Canalda y Brau, 2006, p.65).

Su patogenia presenta grandes comunicaciones entre la cavidad pulpar y la lesión cariosa por lo que hay un drenaje espontáneo de exudado seroso, sin la capacidad de formar edema intrapulpar, Los alimentos o restauraciones en los dientes bloquean el drenaje originando una inflamación aguda del tejido conjuntivo pulpar o necrosis con o sin compromiso periapical. Aquí las bacterias anaerobias forman una hidrólisis proteica, que hace posible el metabolismo de péptidos y aminoácidos, al agotarse los glúcidos séricos, entre los microorganismos encontrados podemos mencionar *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Eubacterium* y *Peptoestreptococcus* (Canalda y Brau, 2006).

2.1.4.3 Necrosis pulpar

La necrosis pulpar es la descomposición, séptica o no, del tejido conjuntivo pulpar que cursa con la destrucción del sistema microvascular y linfático, de las células y, en última instancia, de las fibras nerviosas, Consiste en el cese de los procesos metabólicos de pulpa.

En su patogenia el nicho ecológico microbiano presente en las pulpitis irreversibles asintomáticas, de respiración aerobia y anaerobia facultativa, fundamentalmente se va transformando en un medio de respiración anaerobia estricta a medida que disminuye el potencial de óxido reducción hístico, por lo que dificulta el proceso de fagocitosis, facilitando el desarrollo y multiplicación microbiana. (Canalda y Brau, 2006, p. 66).

Las bacterias que se encuentran presentes poseen una gran capacidad proteolítica y colagenolítica, por la cual ayudan a la desestructuración del tejido conjuntivo pulpar. Entre las bacterias encontradas tenemos los *Streptococcus viridans*, las especies de los géneros *Peptoestreptococcus*, *Fusobacterium*, *Prevotella* y *Porphyromonas*, también se pueden encontrar

Mitsoukella dentalis, especies móviles como *C. rectus*, *E. corrodens*, *Capnocytophaga spp* que se pueden encontrar en el tercio apical (Canalda y Brau, 2006).

2.1.5 Patología del periápice

La inflamación periapical de origen pulpar se origina por la llegada de toxinas bacterianas e incluso bacterias al periodonto apical, por el orificio apical, conducto lateral y en la zona de bifurcación radicular. Por lo general esta es asintomática a excepción del absceso apical agudo primario y la periodontitis apical serosa. El 55% de las bacterias encontradas son anaerobios facultativos y el 21% anaerobios estrictos, las especies halladas en los últimos 5 mm apicales son anaerobias estrictas. Las bacterias que se encuentran frecuentemente en todas las periodontitis apicales son *Treponema denticola*, *P. endodontalis*, *Tannerella forsythia*, *Pseudoramino bacter alactolyticus*, *Dialister pneumosintes*, *F. alocis*, *P. gingivalis*, *Propionobacterium propionicus* y *Treponema socranskii*, *Capnocytophaga gingivalis*, *Streptococcus intermedius*, *Fusobacterium naviforme*, *Selenomona noxia*, la especie reconocida como endopatógena en periodontitis asintomáticas, fue *Actinomyces actimicetemcomitans* (Canalda y Brau, 2006).

2.1.5.1 Periodontitis apical reversible

Es la inflamación aguda del periodonto apical y/o lateral producida por una patología pulpar, traumatismo, iatrogenia, entre otras. Su patogenia presenta una primera reacción de defensa de carácter inflamatorio seroso, y en ella se produce una hiperemia periapical, embolización de toxinas y bacterias, que inician una respuesta inmunológica inespecífica, debido a la liberación de mediadores químicos de la inflamación (Canalda y Brau, 2006).

2.1.5.2 Periodontitis apical irreversible

Se diferencian en dos formas clínicas: serosa y purulenta, la periodontitis apical serosa presenta una vasodilatación capilar más intensa, mayor trasudación plasmática y formación de

edema. Mientras que la periodontitis apical purulenta llamada también absceso apical agudo, existe un mayor número de componentes celulares debido a la llegada de productos metabólicos terminales, bacterias o sus toxinas al periapice procedentes del conducto radicular de un diente con necrosis pulpar. La capacidad fagocítica de los microorganismos forma un exudado purulento que tiende a buscar una salida a través del hueso, alcanzando el periostio. Con el tiempo lo destruye y forma un absceso submucoso o subcutáneo, que puede extenderse por planos anatómicos ocasionando una celulitis o llegar a fistularse (Canalda y Brau, 2006, p.68).

2.1.5.2.1 Periodontitis apical irreversible asintomática

2.1.5.2.1.1 Osteoesclerosis apical

Conocida como osteomielitis apical esclerosante focal u osteítis condensante. En su patogenia se observa mayor incidencia en personas jóvenes y en molares. Aquellos estímulos leves y que se mantienen en el tiempo, provenientes del conducto radicular, especialmente de pulpitis irreversibles asintomáticas provocan la condensación ósea alrededor de los ápices radiculares. El desarrollo de la osteoesclerosis apical es una reacción al efecto estimulante de la inflamación pulpar (Canalda y Brau, 2006).

2.1.5.2.1.2 Periodontitis apical irreversible asintomática supurada

También conocida como absceso apical crónico, puede asociarse a la forma granulomatosa. Consiste en la formación de un exudado periapical purulento con drenaje espontáneo hacia el exterior a través de un conducto fistuloso (Canalda y Brau, 2006, p.70).

2.1.5.2.1.3 Periodontitis apical reversible asintomática granulomatosa

También llamada periodontitis apical crónica granulomatosa, es consecuencia de la llegada de toxinas y bacterias procedentes del tejido pulpar necrótico al periapice. A diferencia de la

periodontitis apical supurada en esta existe un mayor componente osteolítico y menor activación microbiana, que se traduce en la ausencia de fistula (Canalda y Brau, 2006, p.71).

2.1.5.3 Quiste apical

El quiste apical o radicular es un quiste inflamatorio provenientes huesos maxilares en los ápices de dientes con necrosis pulpar. Este quiste deriva de una lesión periapical granulomatosa, aunque esta no necesariamente pueda evolucionar en un quiste. Las células epiteliales incluidas en las lesiones crónicas que se originan de los restos celulares de Malassez proliferan en una primera fase debido a la acción de mediadores celulares y metabolitos liberados, en una segunda fase se forma una capa epitelial que delimita al quiste apical, finalmente, el quiste crece en una tercera fase en la cual aumenta la presión osmótica intracavitaria por la caída de células epiteliales en la luz del quiste (Canalda y Brau, 2006).

2.1.5.4 Abscesos apicales

Aquí se establece un desequilibrio entre los microorganismos y las propias defensas, los leucocitos polimorfo nucleares son la principal barrera de defensa, se forman metabolitos de oxígeno, junto enzimas lisosómicas producidas por los leucocitos que favorecen a la formación de pus, su evolución rápida causa dolor intenso, tumefacción periapical además celulitis debido a que el periapice no puede reabsorberse durante la formación de pus. Las bacterias relacionadas a la aparición de abscesos agudos son *P. gingivalis*, y los asociados a una sintomatología menor y localizada son *p. endodontalis* y *P. intermedia*. Se pueden mencionar a otras bacterias prevalentes en los abscesos como *Prophyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium* y *Peptoestreptococcus* además del *Streptococcus viridans* (Canalda y Brau, 2006).

2.1.6 Fracasos endodóncicos

Una de las principales causas es ocasionada por la persistencia, multiplicación y migración de bacterias desde el interior del conducto a los tejidos periapicales, desinfección incompleta de los conductos dejando una capa infectada que induce a los microorganismos a progresar hacia el interior de los túbulos intraradiculares sirviendo de reservorio para los microorganismos. Depende del tiempo para que estas bacterias logren alcanzar el periapice en donde se manifiesta el fracaso (Canalda y Brau, 2006).

Las bacterias mayormente encontradas es *Actinomyces israelii*, entre otras encontradas como el *Propionobacterium*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, la segunda bacteria mayormente encontrada es el *Enterococcus faecalis* que es una bacteria Gram positiva anaerobia facultativa esta bacteria es la más frecuentemente hallada en periodontitis apicales asintomáticas y es más frecuente en infecciones persistentes. También se pueden encontrar levaduras en una menor cantidad (Canalda y Brau, 2006, p.38).

2.1.7 Irrigantes

El empleo de las soluciones irrigadoras es importante mencionar, ya que contribuyen a la desinfección del sistema de conductos; en resumen, busca la limpieza, conformación y lubricación. Entre las sustancias más usadas tenemos: el agua oxigenada 10 volúmenes, se trata de una solución de peróxido de hidrogeno al 3%, indicada para procedimientos de limpieza en pulpectomías, con el objetivo de eliminar restos de sangre y favorecer la hemostasia, presenta un poder antiséptico; soluciones de detergente aniónico, utilizadas en las pulpectomias debido a su capacidad detergente y biocompatibilidad; solución de hipoclorito de sodio, es la más adecuada para la irrigación de conductos, son utilizadas a diferentes concentraciones, debido a su buena capacidad de limpieza, poder antibacteriano efectivo, entre otros efectos; solución de hidróxido

de calcio, posee un efecto de limpieza mecánico; clorhexidina, es un antiséptico catiónico bacteriostático y bactericida de acción prolongada, pero no posee capacidad disolvente de tejido orgánico; el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), empleado para remover el barro dentinario, aumenta la permeabilidad dentinaria (Goldberg y Soares, 2003).

2.1.7.1 Hipoclorito de sodio

Es un compuesto halogenado su función primordial es disolver los restos de tejido pulpa, es efectivo en tejido pulpar vital y necrosado o fijado por algún producto químico, además destruye bacterias, neutralizando sus componentes y productos antigénicos. Es utilizado en concentraciones desde 0,5 hasta 5,25% a mayor concentración mayor son sus propiedades solventes y antibacterianas, pero además también se incrementa su toxicidad. Esta sustancia altera la biosíntesis del metabolismo celular con la formación de cloraminas, además destruyen los fosfolípidos presentes en la pared celular, poseen una acción oxidativa con inactivación enzimática que es irreversible en las bacterias, degradación de ácidos grasos y lípidos, también produce alteraciones en el colágeno de la dentina y glucosaminoglucanos (Canalda y Brau, 2006).

2.1.7.2 Técnicas de irrigación

Es un proceso sencillo que consiste en llevar las soluciones a la zona más apical del conducto y al mismo tiempo realizar la aspiración, las soluciones son introducidas en jeringas de plástico, las agujas conectadas pueden ser de un calibre entre 27 y 30 que son para conductos curvos, estas deben doblarse para ingresar fácilmente al interior de los conductos de forma pasiva sin ejercer presión y permitir un reflujo de la sustancia, para evitar complicaciones posteriores como reagudización de la misma infección o un enfisema facial. Si los conductos son muy estrechos las limas facilitan el paso de la aguja hacia el interior de los conductos (Canalda y Brau, 2006).

2.1.8 Ozono

El ozono fue descubierto por Christian Friedrich Schonbein en 1840, cuando al pasar una descarga eléctrica sobre el agua, se produjo un extraño olor, al cual le puso el nombre de ozono, de la palabra griega “ozein” que significa olor (Nogales, Ferrari, Kantorovich y Lage, 2008).

En 1917 durante la Primera Guerra Mundial, Hans Wolff, un fisiólogo alemán empezó a utilizar el ozono en heridas con abscesos y vio que se producía una mejor cicatrización en las heridas, consiguiendo una rápida desinfección. Es así como junto con Joachim Hansler, un físico alemán, crearon el primer generador de ozono para uso médico. Su diseño continúa siendo hasta ahora la base para varios equipos modernos. En aquellos tiempos, la ozonoterapia era muy limitada y difícil de utilizar por a la falta de materiales que sean resistentes al ozono como el nylon, dacron y teflón, hasta algunos años después cuando los materiales resistentes al ozono fueron creados. Sin embargo, no fue hasta 1950 cuando el dentista Edwar Fish, comienza la aplicación del ozono en tratamientos dentales (Nogales, Ferrari, Kantorovich y Lage, 2008).

El ozono (O_3) es una molécula gaseosa natural formada por tres átomos de oxígeno. La palabra ozono proviene de la palabra griega ozein, que significa olor, y fue utilizada por primera vez en 1840 por el químico alemán Christian Friedrich Schonbein "El padre de la ozonoterapia"(Seidler *et al.*, 2008, p.13).

Los tres átomos de oxígeno constituyen una molécula tri-atómica de ozono. Igual oxígeno - los enlaces de oxígeno los unieron en un ángulo obtuso de $116^\circ C$. La estructura del ozono tiene un impedimento estérico interno que le impide formar una estructura triangular (Patel, Kumar, Gujjari, Vidya y Amrita, 2011, p.258).

Las moléculas de oxígeno en el aire se combinan bajo la influencia de factores como la radiación ultravioleta (del sol) y las descargas eléctricas (rayos). El estrés físico intenso en el

agua (como en las zonas de cascadas y las olas del océano que se estrellan contra las rocas) también provoca la producción de ozono en la naturaleza (Holland, 2010, p.10).

La formación del ozono se puede originar de dos maneras, una natural por acción de descargas eléctricas durante tormentas y la otra mediante la radiación ultravioleta que emite el sol, aunque también puede tener su formación a través de aparatos generadores de ozono (Echeverry, Carmona, Aponte y Cadavid, 2001).

2.1.9 Efecto del ozono a nivel celular

El ozono daña la integridad celular bacteriana a través de la oxidación de fosfolípidos y lipoproteínas, en el caso de las levaduras inhibe el crecimiento celular, en virus daña la capsula y altera el ciclo reproductivo interrumpiendo su contacto con la célula produciendo una peroxidación. El ozono mejora la circulación debido a que en las enfermedades circulatorias se produce una aglutinación de glóbulos rojos que dificulta el flujo sanguíneo producido una disminución de oxígeno, el ozono elimina el aglutinamiento y produce oxigenación de los tejidos. El ozono produce la activación del Ciclo de Krebs mediante la carbonización oxidativa del ácido pirúvico, estimulando la creación del Adenosin trifosfato (ATP), además provoca el incremento de reducción de la Nicotinamida adenina dinucleotido (NADH) y contribuye a la oxidación del citocromo C. actúa como limpiador de radicales libres, inhibe el metabolismo tumoral oxidando la capa lipídica del interior de las células malignas destruyéndolas por medio de lisis celular, activa el Sistema inmune provocando un mayor crecimiento del interferón y del factor de necrosis tumoral α e interleucina 2 que promueve las reacciones inmunológicas (Bazzano, 2016).

2.1.10 Propiedades antimicrobianas del ozono

El ozono provoca la inactivación de bacterias, virus, hongos, levaduras y protozoos. Daña la integridad de la envoltura de las células bacterianas debido a la oxidación de fosfolípidos y lipoproteínas. El ozono a una baja concentración de 0.1 ppm, es suficiente para poder provocar una inactivación las células bacterianas (Broadwater & Hoehn).

En los hongos, el O₃ inhibe el crecimiento celular en ciertas etapas (Bocci, 1994).

Con los virus, el O₃ daña la cápside viral y altera el ciclo reproductivo al interrumpir el contacto de virus a célula con la peroxidación (Elvis & Ekta, 2011, p.70).

La terapia con ozono presenta grandes ventajas cuando se utiliza como soporte para tratamientos convencionales y está indicada para su uso en una amplia gama de especialidades dentales (Pattanaik *et al.*, 2011, p.92).

Realizaron un estudio en el que se evaluó la acción del ozono gaseoso y acuoso sobre el efecto citotóxico en las células del epitelio oral humano (BHY) y las células de fibroblastos gingivales (HGF-1) en comparación con diferentes antisépticos. Evaluaron los conteos celulares, su actividad metabólica, la unión de Sp-1, los niveles de actina y la apoptosis. Descubrieron que el gas ozono tiene efectos tóxicos en ambos tipos de células. Básicamente, no se observaron signos citotóxicos para el ozono acuoso confirmándose que el ozono acuoso posee mayor biocompatibilidad que los antisépticos probados (Huth *et al.*, 2006).

III. Método

3.1 Tipo de Investigación

In vitro:

Experimental: porque las variables fueron manipuladas para observar los resultados, siendo la efectividad antimicrobiana nuestra variable independiente y la variable dependiente las diferentes concentraciones que utilizaremos, de agua ozonizada e hipoclorito de sodio.

Prospectivo: porque los eventos ocurren durante el estudio a realizar.

Longitudinal: se realizarán medidas de unidades formadoras de colonias, antes y después del uso del ozono e hipoclorito de sodio

3.2 Ámbito temporal y espacial

Temporalidad, la investigación se realizó el año 2019 en el periodo de Enero –Marzo, en el Área de Microbiología del Hospital Nacional Hipólito Unanue.

3.3 Variables

3.3.1 Tipos de variables

Variable dependiente: Efectividad antimicrobiana

Variable independiente: Concentraciones de Agua ozonizada e hipoclorito de sodio

3.3.2 Definición de las variables

Efectividad antimicrobiana: la capacidad de poder eliminar o inhibir el crecimiento de microorganismos como bacterias, hongos o virus, dentro de un tiempo determinado con el mínimo de recursos posibles, que se determinó gracias a la actividad antimicrobiana de la sustancia utilizada frente a los microorganismos.

Agua ozonizada: La concentración del agua ozonizada se obtuvo por el método amperométrico, a través de un dispositivo en donde la conducción de corriente eléctrica es proporcional a la concentración del ozono disuelto en el agua.

Hipoclorito de sodio: irrigante más usado en la endodoncia debido a su poder bactericida, su capacidad de disolver tejido orgánico e inorgánico; entre otras propiedades que lo acercan al irrigante ideal.

3.4 Población y muestra

Población: 60 dientes premolares, unirradiculares.

Muestra: 60 placas Petri sembradas mediante el uso del cono de papel previamente sumergidas dentro de los conductos irrigados.

Unidad de análisis: número de colonias, producidas en las placas Petri a 37c°.

Cálculo del tamaño de muestra: Tamaño de muestra. Comparación de proporciones independientes.

El cálculo de tamaño de muestra se obtuvo mediante el programa EPIDAT, para comparar dos proporciones, que nos permitió obtener 15 muestras por grupo de estudio.

Potencia (%) es la capacidad de detectar las diferencias entre los grupos (80%) Nivel de confianza del 95%.

c) Criterios de selección

Criterios de inclusión

- Recolección de dientes recientemente extraídos, sin procesos cariosos y con ápices cerrados.

- La cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, que es la más frecuente encontrada a nivel de los conductos.

Criterios de exclusión

- Se descartaron algunas placas Petri, que aparentemente presentaban alguna configuración diferente al mayor número de ellas, para evitar márgenes de error en los resultados.

d) Operacionalización de las variables

VARIABLE	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSION	INDICADORES	ESCALA	VALOR
EFFECTIVIDAD ANTIMICROBIANA	Efectividad antimicrobiana: la capacidad de poder eliminar o inhibir el crecimiento de microorganismos como bacterias, hongos o virus, dentro de un tiempo determinado con el mínimo de recursos posibles, y puede determinarse gracias a la actividad antimicrobiana de la sustancia a utilizarse ante los microorganismos.	- ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA	- UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS	- RAZON	- 0- 10 ⁸ UFC/ml
AGUA OZONIZADA	La concentración del agua ozonizada se obtuvo mediante un dispositivo de corriente eléctrica para evaluar la concentración del ozono.	- AGUA OZONIZADA	- CONCENTRACIÓN	- RAZÓN	- 0 – 80 ug/ml
HIPOCLORITO DE SODIO	Irrigante bactericida con capacidad de disolver tejido orgánico e inorgánico.	- HIPOCLORITO DE SODIO		-RAZÓN	- DE 0 A 100%

3.5 Instrumentos

Maquina ozonizadora Ozonette de procedencia española con registro sanitario n° DB3229E de la marca comercial SEDECAL, la información adicional esta adjuntada en los anexos.

3.6 Procedimientos

Presentación de la carta de la Universidad Nacional Federico Villarreal, facultad de Odontología, oficina de grados y títulos al Hospital Nacional Hipolito Unanue. Aceptado el permiso, se inició el proceso de la investigación.

a) Obtención del Agua ozonizada: El agua ozonizada se obtuvo mediante un equipo ozonizador con agua destilada refrigerada a 14 C°, el cual es sometido a la energía eléctrica para obtener dos concentraciones de agua ozonizada de 16 ug/ml y 40 ug/ml.

b) Cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, obtenidas del Laboratorio del Servicio de Microbiología y conservadas en crioviales con caldo tripticasa glicerol congeladas a -20°C.

c) Preparación dentaria a 60 dientes premolares seleccionados: se procedió a la apertura cameral, seguidamente se desgastó parte de las cúspides obteniendo una longitud de trabajo igual en todas las piezas; luego se procedió a la preparación con limas K-File, utilizando la técnica convencional manual y con la técnica escalonada para dar conicidad al conducto, se irriego con hipoclorito de sodio al 5.25% y posteriormente se permeabilizo los conductos con EDTA al 17%, los mismos que se sometieron a un proceso de esterilización en el autoclave a una temperatura de 121 °C durante 30 minutos.

d) Contaminación de los conductos radiculares: los conductos fueron contaminados con cepas de *Enterococcus faecalis*, obtenidos del laboratorio del servicio de microbiología y sembrada en placas Pietri con agar BHI por un periodo de 24 horas a 37 c° pasada las cuales, mediante un hisopo estéril se trasladó el cultivo a los tubos de ensayo que contenían 1ml de la solución BHI,

con la escala de Mac Farland a 0,5 se evaluó la turbidez que determina la cantidad de colonias obteniendo $1,5$ a 2×10^8 UFC/ml (mediante un espectofotometro).

Posteriormente, $10 \mu\text{L}$ de cultivo bacteriano fueron transferidos a los 60 conductos radiculares con una micropipeta estéril cada 48 horas por 21 días manteniéndolos a una temperatura de 37°C y una atmosfera al 5% de CO_2 .

e) Formación de grupos: los 60 dientes contaminados fueron separados en cuatro grupos de 15 cada uno. Grupo A, con suero fisiológico. Grupo B, con ozono $16 \mu\text{g/ml}$. el grupo C, con ozono a $40 \mu\text{g/ml}$. Grupo D, con hipoclorito de sodio al 2,5%.

f) Etapa de Irrigación: en esta etapa se procede instrumentación e irrigación a cada grupo por un lapso de 3 minutos con una jeringa de 10 ml y una aguja Navi-tip, instrumentando a la longitud de trabajo con una lima n° 40 y luego con una instrumentación escalonada hasta una lima n°60, en el caso de conductos rectos, en el caso de conductos curvos se instrumentó en la longitud de trabajo con una lima n°30 o n°35 y luego con una instrumentación escalonada hasta una lima n°40 o n°45.

g) Toma de muestras: realizada a irrigación, se introdujo un cono de papel a cada uno de los conductos, compatibles con el diámetro radicular por 30 segundos los cuales fueron retirados.

h) Conteo de unidades formadoras de colonias: los conos retirados se colocaron a un tubo Eppendorf esteril (tubo A) con 2 ml de solución salina, se agita el tubo y posteriormente se extraen 0,2 ml del tubo A para introducirlos a un tubo con 1,8 ml de solución salina (tubo B). Después de este proceso se extraen $10 \mu\text{l}$ de cada tubo con una micropipeta estéril que luego son sembrados en un medio sólido en 60 placas de agar BHI.

Las placas de agar BHI son divididas en 2 lados, cada una sembrada con $10 \mu\text{l}$ de cada tubo, el lado que le pertenece al tubo A es el que no se encuentra diluido en una proporción $10 \mu\text{l}$ por

10 UFC, mientras el lado B se encuentra diluido en una proporción de 10 μ l por 1 UFC. Luego de 48 horas de incubación a 37 c° son multiplicadas por el factor de dilución respectivo, lado A por 10² y lado B por 10³, siendo el número total de colonias UFC el promedio de ambas diluciones, para así llegar a una mayor exactitud en el número de colonias contadas.

3.7 Análisis de datos

Se elaboró una base de datos en Excel y el análisis estadístico de los datos se realizó con el programa Stata v15.0

Se obtuvieron medidas de resumen (media, desviación estándar, mediana, mínimo, máximo) para cada medición.

Se elaboró graficas de caja y bigote (boxplot) para cada tabla.

Para comparar entre las dos muestras con agua ozonizada al 16 y 40 ug/ml se utilizó la prueba de comparación de rangos de Wilcoxon por tratarse de mediciones con mucha dispersión. El nivel de significancia que se empleó fue de 0.05.

3.8 Consideraciones éticas

Valor científico: enriquece e incrementa el ámbito de los conocimientos de la endodoncia, La presente investigación se realizará cumpliendo todos los requisitos para su fundamentación, primero que la selección de la cepa sea certificada por un microbiólogo teniendo todas las condiciones necesarias para mantenerla en su estado natural; el agua ozonizada obtenida de una maquina generadora de ozono que cuente con un manual y certificado que nos demuestre que el agua ha sido obtenida de manera adecuada; todo este estudio será supervisado por especialistas en el área de microbiología.

Valor social: los resultados aportaran conocimientos que beneficiaran tanto a los profesionales para la implementación de una sustancia natural, y a los pacientes para evitar menos complicaciones clínicas.

Proporción favorable riesgo-beneficio: Los riesgos potenciales a los pacientes están minimizados debido a que la recolección de las piezas se hará posteriormente a su extracción por motivos ortodónticos y serán seleccionados, para su uso científico.

IV. Resultados

Tabla 1a

Actividad antimicrobiana del agua ozonizada a 16 µg/ml frente al Enterococcus faecalis ATCC 29212

Variable	N°	Media	D.S.	Mediana	Min	Max
Agua ozonizada a 16 µg/ml	15	1260	2077.62	100	0	6500

Se puede observar que una muestra de 15 placas Petri, la actividad antimicrobiana presenta una media de 1260 UFC, una desviación estándar de 2077.2 y una mediana de 100 UFC.

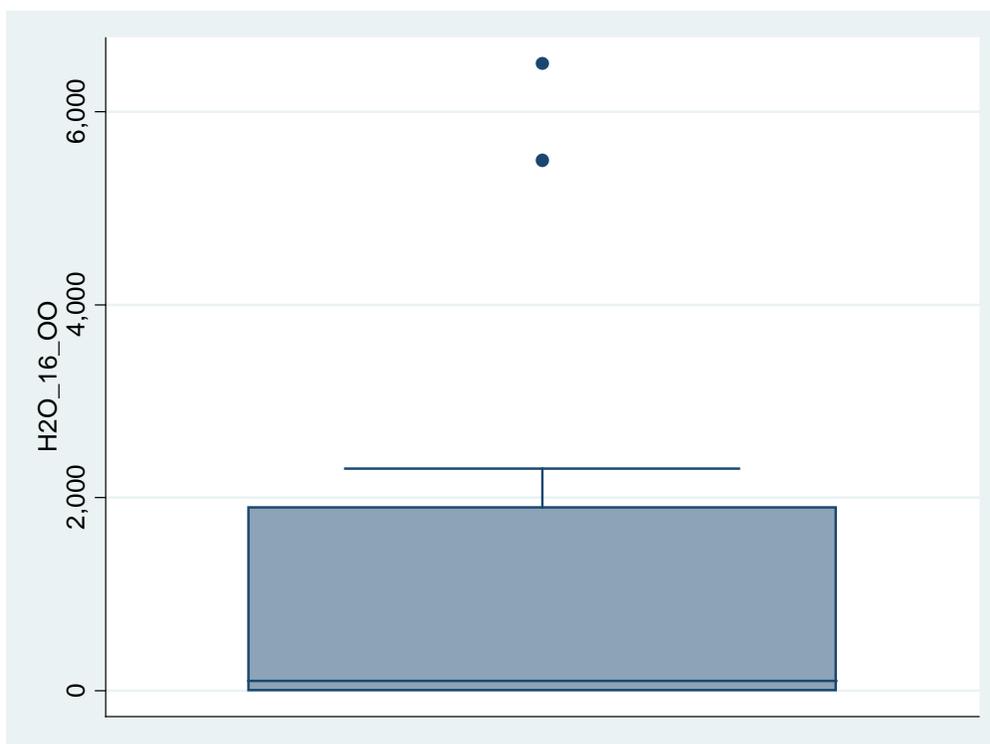


Figura 1a. En la gráfica se puede observar que dos muestras presentan actividad antimicrobiana del agua ozonizada al 16 µg/ml frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 mayor a 5000 UFC (valores muy extremos).

Tabla 1b

Porcentaje de presencia de Enterococcus faecalis ATCC 29212 en agua ozonizada al 16 µg/ml

<i>Ent. Faecalis</i>	N°	%
Ausencia	6	40
Presencia	9	60
Total	15	100

Se puede observar que el porcentaje de ausencia de *Enterococcus faecalis* es del 40 % mientras que el porcentaje de presencia es del 60 % en el conteo total de unidades formadoras de colonias evaluadas con el agua ozonizada a 16 µg/ml.

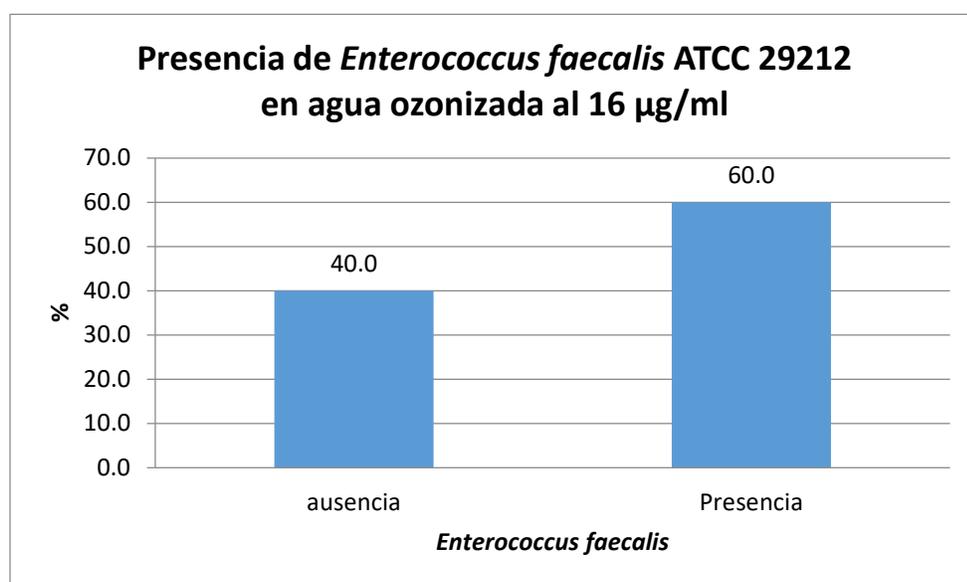


Figura 1b. El porcentaje de presencia de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en agua ozonizada al 16 µg/ml es del 60%.

Tabla 2a

Identificación de la actividad antimicrobiana del agua ozonizada al 40 µg/ml frente al Enterococcus faecalis ATCC 29212

Variable	N°	Media	D.S.	Mediana	Min	Max
Agua ozonizada al 40 µg/ml	15	843.33	1195.81	200	0	3250

Se puede observar que en una muestra de 15 placas Petri, la actividad antimicrobiana del agua ozonizada al 40 µg/ml frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 que la mediana es 843.33, la desviación estándar 1195.81 y la mediana 200. La actividad antimicrobiana fue entre 0 mínimo y 3250 máximo unidades formadoras de colonias.

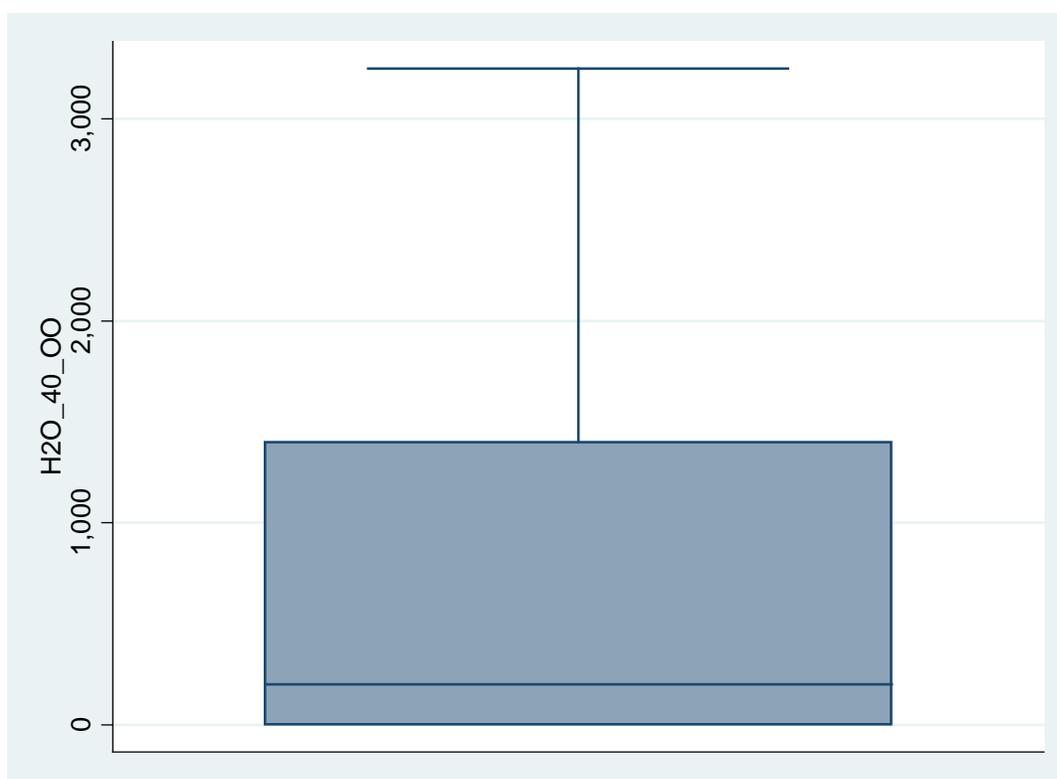


Figura 2a. Se puede observar que la actividad antimicrobiana del agua ozonizada al 40 µg/ml frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 posee resultados más estables sin valores muy extremos.

Tabla 2b

Identificación de la actividad antimicrobiana del agua ozonizada al 40 µg/ml frente al Enterococcus faecalis ATCC 29212

<i>Ent. Faecalis</i>	N°	%
Ausencia	5	33.3
Presencia	10	66.7
Total	15	100.0

El porcentaje de presencia de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en agua ozonizada al 40 µg/ml es del 66.7%.

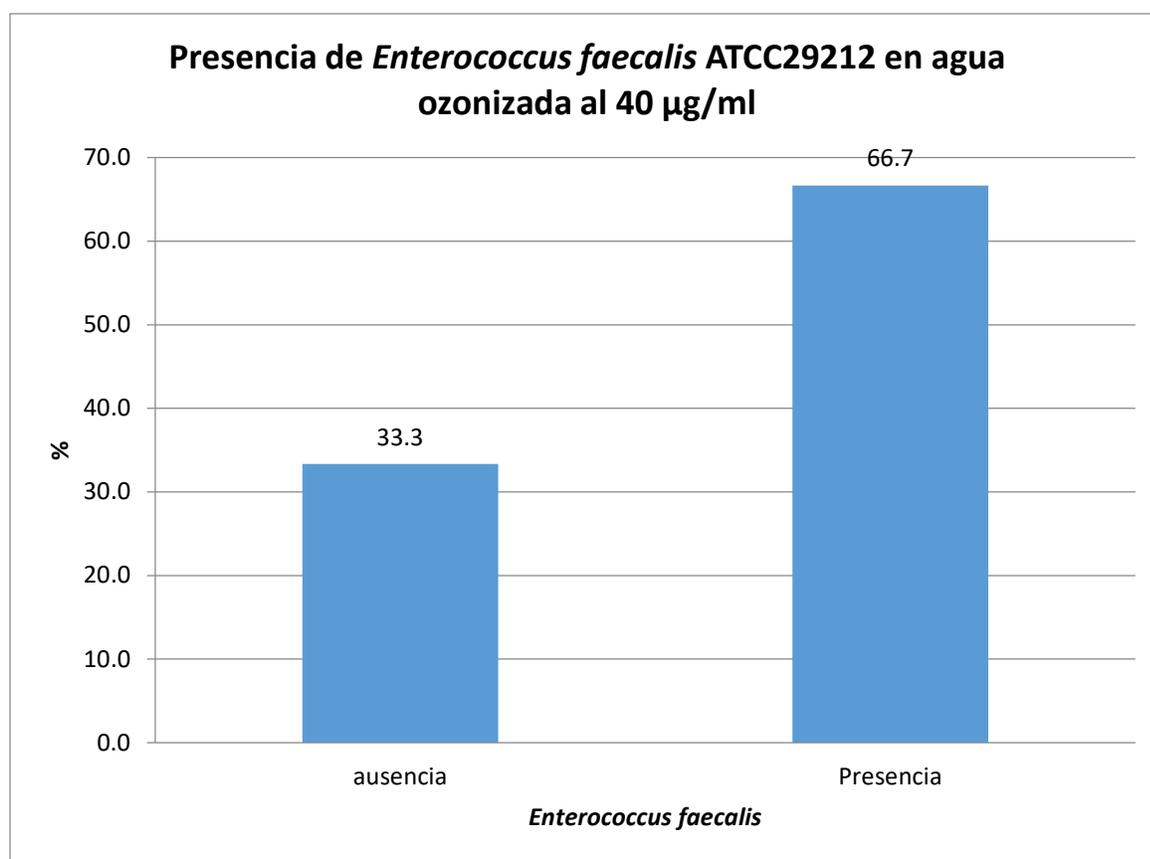


Figura 2b. El porcentaje de presencia de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en agua ozonizada al 40 µg/ml es del 66.7%, mientras que el de ausencia de 33.3%.

Tabla 3a

Comparación de la actividad antimicrobiana entre las concentraciones 16 µg/ml y 40 µg/ml de agua ozonizada.

Variable	Nº	Media	D.S.	Mediana	Min	Max
H2O_16_OO	15	1260	2077.62	100	0	6500
H2O_40_OO	15	843.33	1195.81	200	0	3250

Zw = -0.021, P = 0.9830

Se puede observar en la comparación de las dos concentraciones de agua ozonizada al 16 ug/ml que el máximo de número de unidades formadoras de colonias presentes es 6500 y en la concentración de 40 ug/ml el valor máximo de es 3250 UFC encontradas siendo casi la mitad de las colonias encontradas en la anterior sustancia. No encontrándose diferencias significativas, $P > 0.05$.

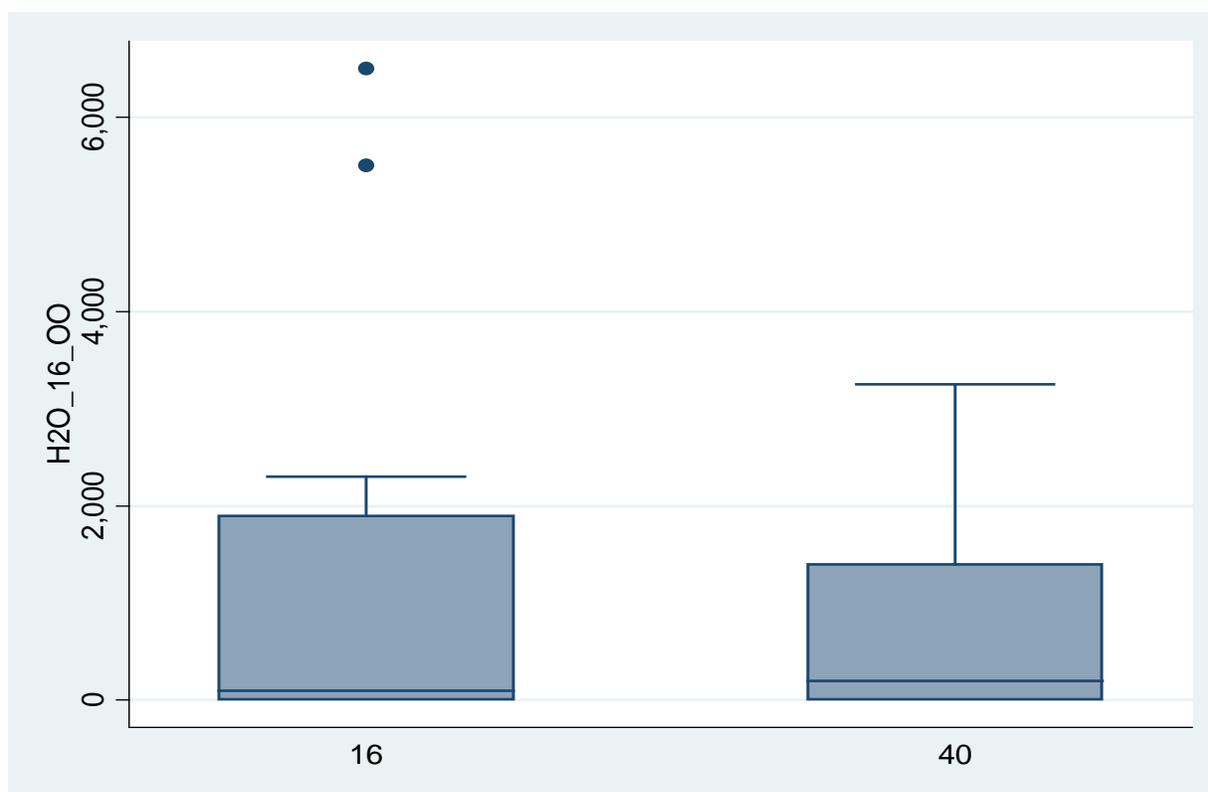


Figura 3a. Se puede observar que presenta menor dispersión y el máximo de colonias es de 3250 casi la mitad respecto al número de colonias del agua ozonizada al 16 µg/ml cuyo valor máximo fue de 6500 colonias.

Tabla 4

*Identificación de la actividad antimicrobiana del suero fisiológico frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.*

Variable	N°	Media	D.S.	Mediana	Min	Max
Suero Fisiológico	15	10123.33	14523.99	5050	0	51100

Se observó en una muestra de 15 placas Pietri, que la actividad antimicrobiana del suero fisiológico frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 una media de 10123.33 UFC, una desviación estándar de 14523.99, una mediana de 5050, siendo 0 mínimo y 51100 máximo unidades formadoras de colonias.

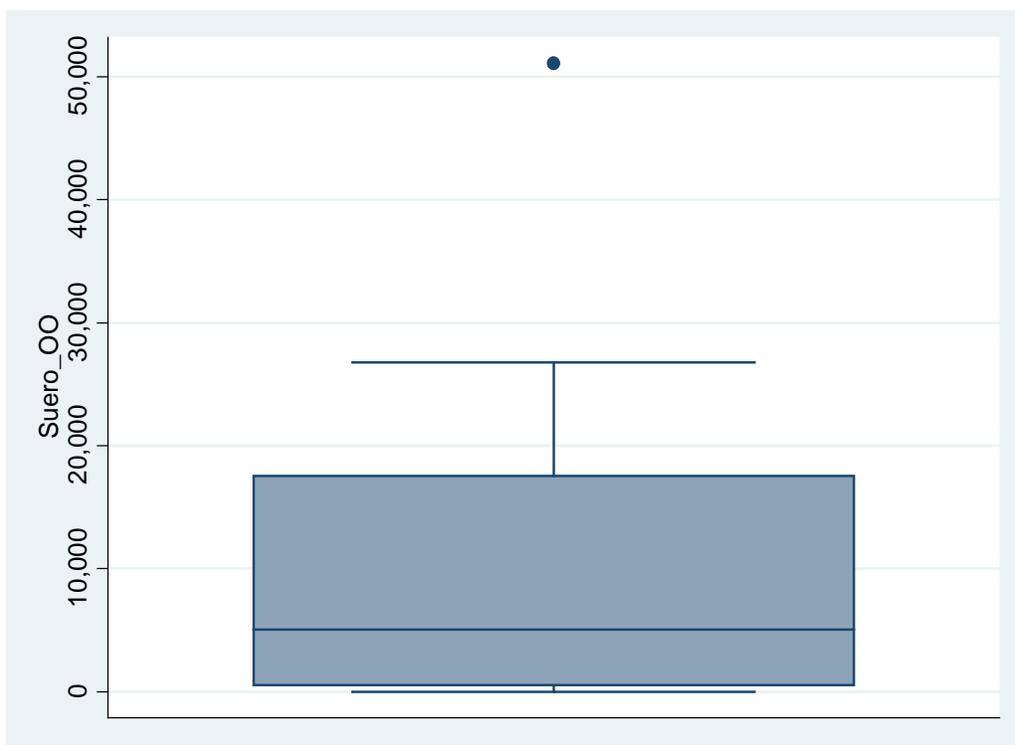


Figura 4. Se puede observar que la actividad antimicrobiana fue entre 0 y 51100 unidades formadoras de colonias.

Tabla 5a

Comparación de la actividad antimicrobiana entre suero fisiológico y cada una de concentraciones 16 $\mu\text{g/ml}$.

Grupo	N°	Media	D.S.	Mediana	Min	Max
Agua ozonizada 16 $\mu\text{g/ml}$	15	1260	2077.62	100	0	6500
Suero fisiológico	15	10123.33	14523.99	5050	0	51100

Zw= -2.615, P= 0.0089

Se puede observar que en las muestras con agua ozonizada al 16 $\mu\text{g/ml}$ presenta una mediana de 100 y un valor máximo de colonias de 6500 muy por debajo respecto al número de colonias con suero fisiológico con una mediana de 5050 y un valor máximo de 51100 colonias. Al comparar las medianas si se encontró diferencias significativas, $P < 0.05$.

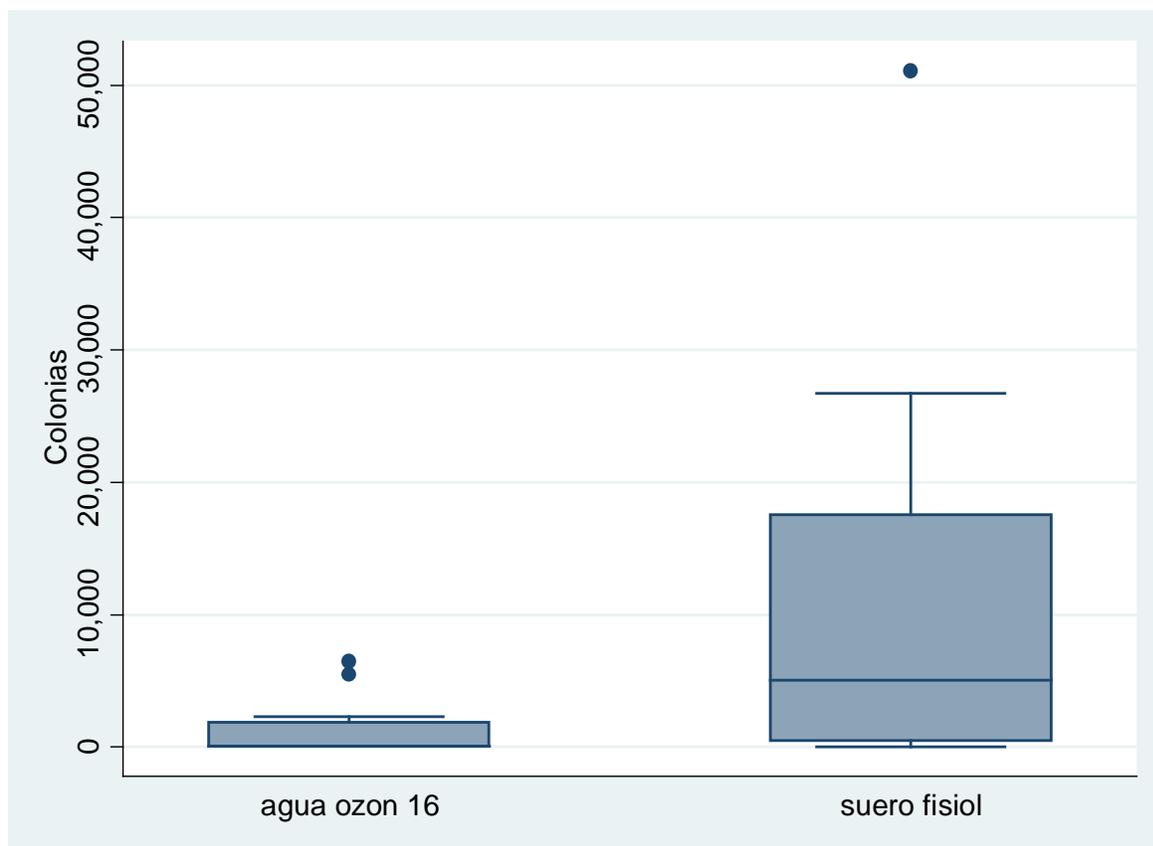


Figura 5^a. Se puede observar que en las muestras con agua ozonizada al 16 $\mu\text{g/ml}$ presentan menor o igual a 100 colonias de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 con un máximo de colonias de 6500 muy por debajo respecto al número de colonias con suero fisiológico, en donde las

muestras presentan menor o igual a 5050 colonias de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 con un máximo de 51100 colonias.

Tabla 5b

Comparación entre el agua ozonizada al 40 $\mu\text{g/ml}$ y suero fisiológico.

Grupo	N°	Media	D.S.	Mediana	Min	Max
Agua ozonizada 40 $\mu\text{g/ml}$	15	843.33	1195.81	200	0	3250
Suero fisiológico	15	10123.33	14523.99	5050	0	51100

Z= -2.905, P= 0.0037

Se puede observar que en las muestras con agua ozonizada al 40 $\mu\text{g/ml}$ presentan una mediana de 200 colonias de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 con un máximo de colonias de 3250 muy por debajo respecto al número de colonias con suero fisiológico que presenta una mediana de 5050 con un máximo de 51100 colonias. Al comparar las medianas si se encontró diferencias significativas, $P < 0.05$.

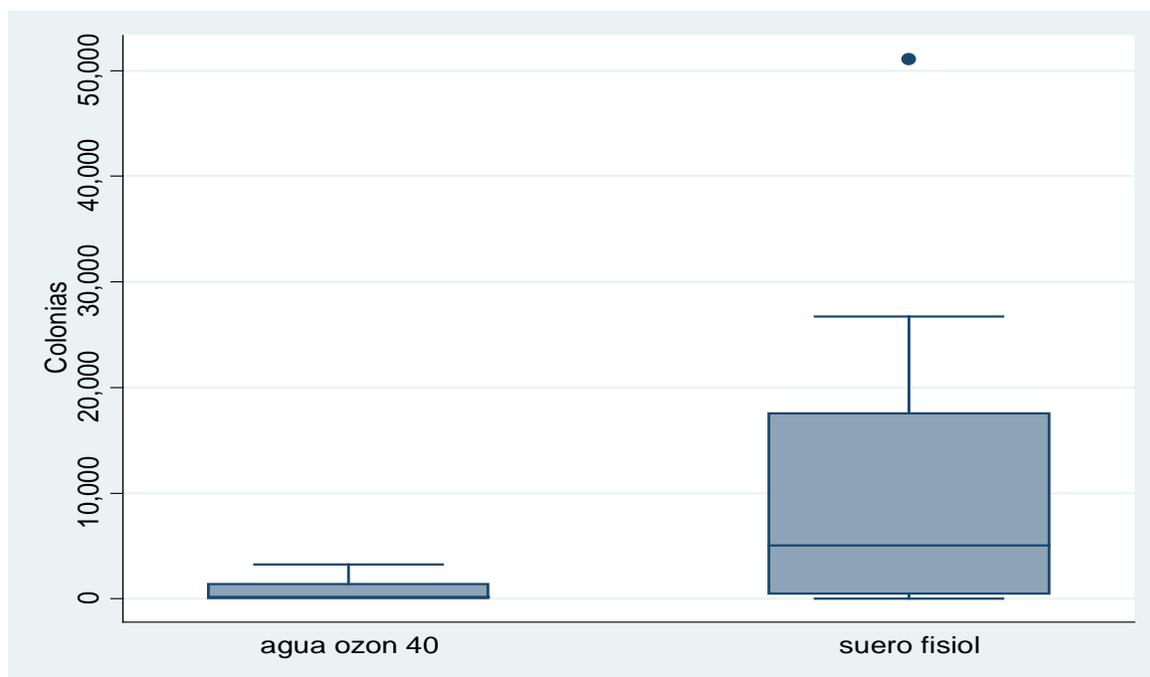


Figura 5b. Se puede observar en la gráfica que en las muestras con agua ozonizada al 40 $\mu\text{g/ml}$ presentan menor o igual a 200 colonias de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 con un máximo de colonias de 3250 muy por debajo respecto al número de colonias con suero fisiológico

Tabla 5c

Comparación de la actividad antimicrobiana entre las tres soluciones (suero, concentraciones 16 $\mu\text{g/ml}$ y 40 $\mu\text{g/ml}$ de agua ozonizada).

Grupo	N°	Media	D.S.	Mediana	Min	Max
1	15	1260	2077.62	100	0	6500
2	15	843.33	1195.81	200	0	3250
3	15	10123.33	14523.99	5050	0	51100
Total	45	4075.56	9363.8	500	0	51100

$\chi^2 = 10.329$, $P = 0.0057$

Se puede observar que, en las muestras con suero fisiológico, la actividad antimicrobiana es muy pobre, encontrando un mayor número de colonias de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, con un máximo hasta 51100 unidades formadoras de colonias. Al comparar las medianas entre las tres muestras, se demostró diferencias significativas, $P < 0.05$, siendo las diferencias entre el suero fisiológico y cada una de las muestras con agua ozonizada al 16 $\mu\text{g/ml}$ y 40 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente, $P < 0.05$.

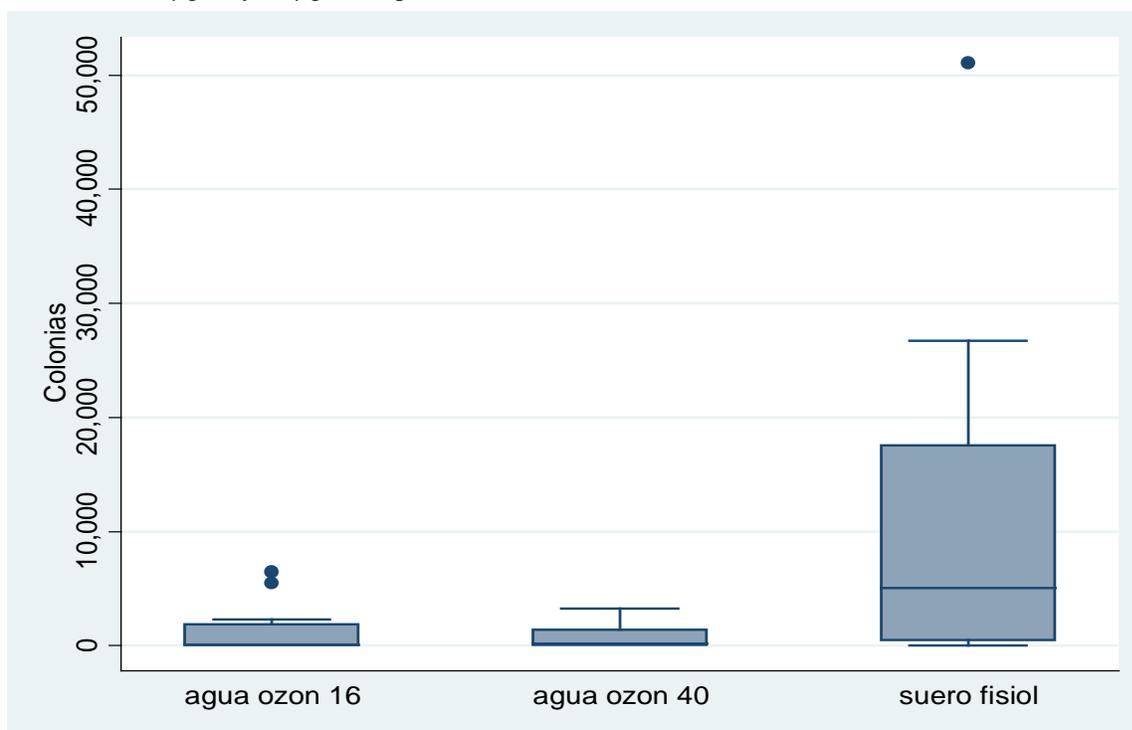


Figura 5c. Se puede observar que, en las muestras con suero fisiológico, la actividad antimicrobiana es muy pobre, encontrando un mayor número de colonias de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 con un máximo hasta de 51100, mientras que no se encontró diferencias significativas en las muestras de las concentraciones de agua ozonizada, a excepción de la dispersión de algunas de las muestras con la concentración del agua ozonizada al 16 $\mu\text{g/ml}$.

Finalmente se trató identificar la actividad antimicrobiana del hipoclorito de sodio 2,5% frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (el resultado fue de 0 para todos). Solo describir que el 100% de las muestras presentaron efectividad total.

V. Discusión de resultados

Sadatullah, Mohamed & Razak (2012) evaluaron el efecto del agua ozonizada al 0,1 ppm frente a la placa supra gingival durante 24 horas in situ, dando como resultado una reducción parcial de la carga bacteriana (*streptococcus mutans* y *candida albicans*), investigación similar a la nuestra en cuanto al uso de agua ozonizada.

Bialoszewski *et al.* (2011) en un estudio realizado a nivel de biofilm dentario, utilizando agua ozonizada, comprobaron que a las 72 horas actuó como bactericida frente (*staphylococcus aureus* y *pseudomonas aeruginosa*), similar a nuestra investigación por el uso del agua ozonizada.

Nogales, Berloti & Lage (2014) evaluaron el efecto del ozono acuoso en tres concentraciones de 2 ug/ml, 5 ug/ml y 8 ug/ml, frente a *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*, en un periodo de 24 horas, encontrando como resultado una turbidez en el matraz de vidrio con solución de ozono de 8 ug/ml, el conteo de las unidades formadoras de colonias (UFC) fue negativo no hubo presencia de crecimiento bacteriano, siendo efectiva el uso de ozono a una concentración de 8 ug/ml. Difiere de nuestra investigación en la que se analizó la turbidez y se realizó el cultivo en un periodo de 48 horas y posterior evaluación del número de colonias.

Noites *et al.* (2014) evaluaron la efectividad del ozono gaseoso, combinado con clorexhidina al 0,2% y 2%, hipoclorito de sodio a 1%, 3% y 5% frente al *Enterococcus faecalis* y a la *Candida albicans*, obteniendo como resultado que el ozono gaseoso no fue eficaz en periodos cortos para eliminar a dichas bacterias, así mismo, comprobaron que a mayor tiempo de exposición hubo mejores resultados, pero no estadísticamente significativos. Comparado con las combinaciones con clorhexidina encontraron mayor efecto a nivel de la *Candida albicans*, En

relación a la mezcla de ozono con hipoclorito de sodio observaron mayor eficacia frente al *Enterococcus faecalis*, se puede evidenciar que a mayor tiempo de exposición en el caso del ozono gaseoso se pueden tener mejores resultados, aunque no se eliminan por completo las bacterias, en el caso de este estudio el oxígeno es muy volátil por lo tanto se hace difícil su manipulación, por lo tanto difiere de nuestra investigación en la que se trabajó con ozono acuoso encontrando mayor efectividad frente al *Enterococcus faecalis*.

Camacho, Salmerón & Martínez (2017) evaluaron la eficacia antimicrobiana del ozono acuoso e hipoclorito al 2,5%, frente a 0,1 ml de *Enterococcus faecalis* cultivadas en agar sangre con el conteo inmediato, de las unidades formadoras de colonias. Difiere de nuestra investigación en que el *Enterococcus faecalis*, se cultivó en agar BHI y después de 48 horas se realizó el conteo de unidades formadoras de colonias.

Pinheiro *et al.* (2018) evaluó la eficacia antimicrobiana del ozono e hipoclorito 2,5% frente al *enterococcus faecalis*, *streptococcus mutans* y *candida albicans*, en la curvatura de los conductos de molares mandibulares, utilizando el sistema rotatorio, encontraron una reducción significativa del microorganismo comparado con las demás sustancias. Similar a nuestra investigación por las sustancias utilizadas y la eficacia antimicrobiana, difiere por la técnica manual utilizada.

Hubbezoglu, Zan, Tunc & Sumer (2014) evaluaron el efecto del ozono a diferentes concentraciones 8 ppm, 12 ppm y 16 ppm y el hipoclorito 5,25% frente al *Enterococcus faecalis* utilizando la técnica manual y la técnica ultrasónica. Encontraron diferencias significativas entre la técnica manual y la técnica con ultrasonido, siendo mayor la técnica de ultrasonido, que difiere de nuestra investigación en las concentraciones utilizadas y en la técnica empleada, siendo similar eficacia.

Oter, Topcuog, Tanque & Cehreli (2018) evaluó la eficacia del ozono de 16 ppm en conductos radiculares con instrumentación mecánica estándar en comparación con el hipoclorito frente al *Enterococcus faecalis*, demostrando que el agua ozonizada no tuvo resultados significativos en comparación con el hipoclorito de sodio, difiere de nuestra investigación en la que se encontró efectividad antimicrobiana evaluadas de acuerdo al conteo de las unidades formadoras de colonias de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 a las 48 horas de incubación, con una presencia antimicrobiana del 60% y una ausencia de 40% de *Enterococcus faecalis*.

VI. Conclusiones

1. La actividad antimicrobiana, del agua ozonizada a 16 ug/ml frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 fue de 40% y 60% no presento actividad antimicrobiana en una muestra de 15 placas Petri.
2. La actividad antimicrobiana del agua ozonizada a 40 ug/ml obtuvo una eficacia del 33.3% frente al *Enterococcus faecalis*.
3. la actividad antimicrobiana en concentraciones de 16 ug/ml y 40 ug/ml de agua ozonizada frente al *Enterococcus faecalis* no presento diferencias estadísticas significativas, observadas en las medianas del agua ozonizada, demostrando que ambas tienen similar actividad antimicrobiana.
4. La actividad antimicrobiana del suero fisiológico, obtuvo valores de actividad microbiana mayores a 51100 UFC, demostrando que no existe una actividad antimicrobiana en las placas Petri (control).
5. Al comparar la actividad antimicrobiana del agua ozonizada en las dos concentraciones de 16 ug/ml y 40 ug/ml con la del suero fisiológico, se pudo concluir de acuerdo a los resultados que la efectividad del suero fisiológico fue muy pobre, comparado con las concentraciones del agua ozonizada de 16 ug/ml y 40 ug/ml, con diferencias estadísticamente significativas. $P > 0.05$.
6. Se observó eficacia del hipoclorito de sodio al 2,5% en un 100% frente al *Enterococcus faecalis*.

VII. Recomendaciones

- ✓ Se recomendaría realizar otros estudios con una mayor concentración de ozono, para mejorar la estabilidad de los resultados y corroborar si existe mayor efecto antimicrobiano.
- ✓ Se recomienda utilizar en la preparación de los conductos el sistema rotatorio para comparar los resultados obtenidos, en las concentraciones empleadas.
- ✓ Se podría usar la microscopia electrónica realizando cortes transversales a las piezas estudiadas para ver el nivel de desinfección encontrado en los conductos accesorios.

VIII. Referencias

- Anand, S. K., Ebenezer A.V., Anand, N., Mary, A. V. y Mony, B. (2015). A Comparative Analysis of Antimicrobial Property of Wine and Ozone with Calcium Hydroxide and Chlorhexidine. *Journal Clinical Diagnostic Research*, 9(6), 4-6. doi: 10.7860 / JCDR / 2015 / 11355.6030
- Bazzano, N. (2016), *Ozonoterapia orofacial disrupcion en las técnicas tradicionales*. Buenos Aires, Argentina.
- Bialoszewski, D., Pietruczuk-Padzik, A., Kalicinska, A., Bocian, E., Czajkowska, M., Bukowska, B. y Tyski, S. (2011). Activity of ozonated water and ozone against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Medical Science Monitor*, 17(11), 339-344. doi: 10.12659/MSM.882044
- Bocci, V. (1994), Autohemoterapia después del tratamiento de la sangre con ozono. Una reevaluación. *Journal of International Medical Research*, 22 (3), 131 – 144.
- Broadwater, W. T. y Hoehn, R. C. (1973). Sensibilidad de tres especies bacterianas seleccionadas al ozono. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 26 (3), 391 – 393.
- Camacho, A. F., Salmerón, L. P. y Martínez, Y. B.(2017). Effects of photodynamic therapy, 2 % chlorhexidine, triantibiotic mixture, propolis and ozone on root canals experimentally infected with *Enterococcus faecalis*: an in vitro study. *Epub*, 105(3), 338-346. doi: 10.1007/s10266-016-0271-4

- Carson, R. K., Goodell, G. G. y McClanahan, B. S. (2005). Comparison of the Antimicrobial Activity of Six Irrigants on Primary Endodontic Pathogens. *Journal Endodontics*, 31(6),471-473.
- Donika, B., Veton, H., Omer, G., Sevda, M., Naciye, D. Z. y Selen K. (2014). Cytotoxic effect of endodontic irrigants in vitro, *Medical Science Monitor Basic Resesearch*, 20(1), 22–26. doi: 10.12659/MSMBR.890247
- Echeverry, D., Carmona, F., Aponte, G. y Cadavid, H. (2001). Diseño y construcción de un generador de ozono por descarga Corona. *Energía y Computación. Energía y Computación*. 1(10), 27-32.
- Elvis, A. M. y Ekta, J. S. (2011). La terapia de ozono: una revisión clínica, *Journal of Natural Science Biology Medicine*, 2 (1), 66 – 70. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3312702/>
- Goldberg, F. y Soares, J. (2003). *Endodoncia técnica y fundamentos*. Buenos Aires, Argentina. Editorial panamericana.
- Haapasalo, M., Endal, U., Zandi, H. y Coil, M. J. (2005). Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. *Endodontic Topics*, 10(1), 77-102. doi.org/10.1111/j.1601-1546.2005.00135.x
- Haapasalo, M., Qian, W. y Shen, Y. (2012). Irrigation: beyond the smear layer. *Endodontic Topics*, 27(1), 35-53. doi:10.1111/etp.12030

- Holland, A. (2010). Ozone in endodontics, *Endodontic Practice*, 1(1), 6-10. Recuperado de <https://pdfs.semanticscholar.org/214d/c75b02191dcbcf37d157b0568628006b661c.pdf>
- Hubbezoglu, I., Zan, R., Tunc, T. y Sumer, Z. (2014). Antibacterial Efficacy of Aqueous Ozone in Root Canals Infected by *Enterococcus faecalis*. *Jundishapur J Microbiol*, 7 (7), 1-5. doi: 10.5812 / jjm.11411.
- Huth, C. K., Jakob, M. F., Saugel, B., Cappello, C., Paschos, E. y Hollweck, R. (2006). Effect of ozone on oral cells compared with established antimicrobials. *European Journal Oral Science*, 114 (5), 435 – 440.
- Leonardo, M. (2005). *Tratamiento de conductos radiculares principios técnicos y biológicos*. Sao Paulo, Brasil, Artes medicas latinoamerica,
- Nogales, G.C., Ferreira, B. M., Montemor, A.F., Rodrigues, A. M., Marques-Lage, J. L. y Antonazzi, J. H. (2014). Comparison of the antimicrobial activity of three different concentrations of aqueous ozone on *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Enterococcus faecalis* – in vitro study, *Revista Española de Ozonoterapia*, 4(1), 9-15. Recuperado de https://www.academia.edu/25249098/Comparison_of_the_antimicrobial_activity_of_three_different_concentrations_of_aqueous_ozone_on_Pseudomonas_aeruginosa_Staphylococcus_aureus_and_Enterococcus_faecalis_in_vitro_study_Endodontic_therapy_ozone_aqueous_ozone
- Nogales, G. C., Ferrari, P., Kantorovich, E. y Marques-Lage, J. L. (2008). Ozone therapy in medicine and Dentistry. *Journal Contemporary Dental Practice*, 9(4), 75-84.

- Nogales, G.C., Ferreira, B. M., Montemor, A. F., Rodrigues, A. M., Marques-Lage, J. L. y Antonazzi, J. H. (2016). Ozone therapy as an adjuvant for endodontic protocols: microbiological – ex vivo study and citotoxicity analyses. *Journal of Applied Oral Science*, 24 (6), 607-613. doi.org/10.1590/1678-775720160029
- Noites, R., Pina-Vaz, C., Rocha, R., Carvalho, M. F., Gonçalves, A. y Pina-vaz, I. (2014). Synergistic Antimicrobial Action of Chlorhexidine and Ozone in Endodontic Treatment. *Biomed Research International*, 1(1), 1-6. doi: 10.1155/2014/592423
- Öter, B., Topçuoğ, N., Tanque, M. K. y Çehreli, S. B. (2018). Evaluation of Antibacterial Efficiency of Different Root Canal Disinfection Techniques in Primary Teeth. *Photomed Laser Surgery*, 36(4), 179-184. doi: 10.1089/pho.2017.4324
- Patel, P. V., Kumar, V., Kumar, S., Vidya, G. D. y Patel, A. (2011). Therapeutic effect of topical ozonated oil on epithelial healing of palatal wound site: a planimetric and cytological study. *Journal Clinical Investigation Dental*, 2(4), 248-258. doi:10.1111/j.2041-1626.2011.00072.x
- Pattanaik, B., Jetwa, D., Pattanaik, S., Manglekar, S., Naitam, D. y Dani, A. (2011). Ozone therapy in dentistry: a literature review. *Journal Interdisciplinary Dental*, 1 (2), 87 – 92. Recuperado de <http://www.jidonline.com/article.asp?issn=2229-5194;year=2011;volume=1;issue=2;spage=87;epage=92;aui=Pattanaik>
- Pinheiro, S. L., da Silva, C. C., da Silva, L. A., Cicotti, P.M., Bueno, D. C., Fontana C.,..... de Campos, F. U. (2018). Antimicrobial efficacy of 2.5% sodium hypochlorite, 2% chlorhexidine, and ozonated water as irrigants in mesiobuccal root canals with severe curvature of mandibular molars. *European Journal of Dentistry*, 12(1), 94-99. doi: 10.4103/ejd.ejd_324_17

- Sadatullah, S., Mohamed, N. y Razak, F. (2012). The antimicrobial effect of 0.1 ppm ozonated water on 24-hour plaque microorganisms in situ. *Brazilian Oral Research*, 26(2), 126 – 131.
- Seidler, V., Linetskiy, I., Hubalkova, H., Stankova, H., Smucler, R. y Mazanek, J. (2008). Ozone and its usage in general medicine and dentistry. *Prague Medical Report*, 109 (1), 5-13.
- Siqueira, J.F, Rôças, N.I., Favieri, A. y Lima, K.C.(2000). Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. *Journal Endodontics*, 26(6), 331-4.
doi:10.1097/00004770-200006000-00006
- Stuart, C., Schwartz, S., Beeson, T. y Owatz, C. (2006). *Enterococcus faecalis: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment*. *Journal Endodontics*, 32(2),93-8. doi:10.1016/j.joen.2005.10.049
- Torabinejad, M. y Walton, R., 2010, *Endodoncia principios y práctica*. Barcelona, España, Elsevier.

IX. Anexos

Anexo 1. Fichas de recolección de datos

Tabla 10

Recolección de datos

MUESTRAS	GRUPO N°				
	NÚMERO DE COLONIAS POR				
	DILUCIÓN				
	SUSTANCIA	SUSTANCIA		NÚMERO TOTAL	
SIN DILUIR	10	DILUIDA	1	DE COLONIAS	
10 μ l X 10	X 100	10 μ l x 1	X	UFC	
UFC	X 100	UFC	1000	X ML	
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
					PROMEDIO TOTAL

se pueden observar la cantidad de número de colonias obtenidas de acuerdo a cada dilución y el posterior resultado obtenido del promedio de estas diluciones.

Anexo 2. Ficha técnica de instrumento a utilizar

 PERÚ Ministerio de Salud		Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas		"DECENIO DE LAS PERSONAS CON DISCAPACIDAD EN EL PERÚ" "Año de la consolidación del Mar de Grau"	
					
		Certificado N° SC 4494-1		Registration Number: CO-SC 4494-1	
R.D. N° 984. -2016/DIGEMID/DDMP					
RESOLUCION DIRECTORAL					
Lima, 05 MAYO 2016					
<p>VISTOS, la Solicitud N° 2016083737 del 17 de Febrero del 2016, la Solicitud Única de Comercio Exterior (SUCE) N° 2016081110 del 23 de Febrero del 2016 (expediente N° 16-015018-1 del 24 de Febrero del 2016) y escritos del 29 de Marzo del 2016, del 30 de Marzo del 2016, del 15 de Abril del 2016, del 22 de Abril del 2016, del 27 de Abril del 2016 y del 28 de Abril del 2016, presentado(s) por el (la) Sr(a). Víctor Hugo Huaccha Ruiz, Representante Legal de la Droguería TECHNOLOGY CARE S.R.L., con domicilio en Av. César Canevaro N° 1484, 5to. Piso – Lince, solicitando la INSCRIPCIÓN EN EL REGISTRO SANITARIO DEL DISPOSITIVO MÉDICO DE LA CLASE II (de moderado riesgo): GENERADOR DE OZONO: OZONETTE;</p>					
<p>CONSIDERANDO:</p> <p>De conformidad con lo dispuesto por el Decreto Supremo N° 016-2011-SA y modificatorias, Decreto Supremo N° 001-2016-SA y modificatoria, Decreto Supremo N° 007-2016-SA, Ley N° 29459 Ley de los Productos Farmacéuticos, Dispositivos Médicos y Productos Sanitarios, Decreto Legislativo N° 1161, Decreto Legislativo que aprueba la Ley de Organización y funciones del Ministerio de Salud, Ley N° 27444 Ley del Procedimiento Administrativo General y modificatorias;</p> <p>Estando a lo informado por el Equipo de Dispositivos Médicos;</p>					
<p>SE RESUELVE:</p> <p>Artículo Único.- Autorizar la INSCRIPCIÓN EN EL REGISTRO SANITARIO DEL DISPOSITIVO MÉDICO DE LA CLASE II (de moderado riesgo) en las siguientes condiciones:</p>					
EQUIPO BIOMÉDICO EXTRANJERO					
Registro Sanitario N°	DB3229E	Vigencia	Del 28-04-2016 al 28-04-2021		
Nombre del Dispositivo Médico	GENERADOR DE OZONO: OZONETTE	Marca Comercial	SEDECAL		
Nombre Común	Generadores de Ozono				
Fabricante	SOCIEDAD ESPAÑOLA DE ELECTROMEDICINA Y CALIDAD S.A.	País	ESPAÑA		
Total de folios	Dos (02)				





www.digemid.minsa.gob.pe

Av. Parque de las Leyendas Cdra. Lote 2, Mz. 1-3, Urb. Pando San Miguel, Lima 32, Perú
T(511) 631-4300



PERÚ
Ministerio de Salud

Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas

"DECENIO DE LAS PERSONAS CON DISCAPACIDAD EN EL PERÚ"
"Año de la consolidación del Mar de Grau"



Certificado N° SC 4494-1

Registration Number:
CO-SC 4494-1

R.D. N° 984, -2016/DIGEMID/DDMP

DETALLE DEL DISPOSITIVO MÉDICO
R.S. N° DB3229E

ITEM N°	DESCRIPCION	ACCESORIOS		FORMA DE PRESENTACIÓN	
		CODIGO	PAIS	Forma de presentación del Equipo Biomédico incluyendo sus accesorios y/o componentes	Forma de presentación del Equipo y cada uno de los accesorios
1	GENERADOR DE OZONO: OZONETTE	ABOX012	España	Botella de acero 1,2lts para oxígeno (vacía)	Film de polietileno conteniendo una unidad
		ACARE002	España	Cable de red USA clavija NEMA 5-15	Bolsa PBD x 01 unidad
		AFL0L250	España	Botella de vidrio 250ml para ozonizado de líquidos más accesorios de conexión (mangueritas y conector)	Caja de cartón conteniendo una bolsa con un (01) Equipo y accesorios
		AFL0L500	España	Botella de vidrio 500ml para ozonizado de líquidos más accesorios de conexión (mangueritas y conector)	Bolsa PBD x 01 unidad
		AMANU001	España	Manual del Operador en Español	Bolsa PBD x 01 unidad
		ATUES001	España	Tubo espiral para suministro de oxígeno	Bolsa PBD x 01 unidad
Fin de la lista en el ítem N°: 1					

Regístrese, Comuníquese y Cúmplase.

MINISTERIO DE SALUD
DIRECCION GENERAL DE MEDICAMENTOS, INSUMOS Y DROGAS
[Firma]
D.F. ERICA YUKIKO NISHIHARA
Directora Ejecutiva
Dirección de Despliegue Médico y Productos Sanitarios

EYN/LEHP/JOSR/josr



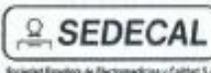
www.digemid.minsa.gob.pe

Av. Parque de las Leyendas Cdra. 1,
Lote 2, Mz. 1-3, Urb. Pando
San Miguel, Lima 32, Perú
T(511) 631-4300

 <small>Sección Especial de Electromedicina y Calidad S.A.</small>	INFORME DE INSPECCIÓN (INSPECTION REPORT) GENERADOR DE OZONO "OZONETTE"	Código: 108020TDR Revisión: 12 Fecha: 09/02/2018 Página: 1 de 8
--	---	--

PRODUCTO: GENERADOR DE OZONO <small>(PRODUCT)</small>		MODELO: OZONETTE <small>(MODEL)</small>	
CODIGO PRODUCTO: OZONETTE <small>(PART NUMBER)</small>			
Nº SERIE: OZT1464 <small>(SERIAL NUMBER)</small>			
PROCEDIMIENTO PRUEBA: 108020TPR <small>(TEST PROCEDURE)</small>		Rev. 10	
ACEPTADO CONTROL FINAL: <input checked="" type="checkbox"/> <small>(FINAL TEST ACCEPTANCE)</small>		FECHA: 15/11/2018 <small>(DATE)</small>	
NOMBRE (C.F.): Luis A. Garcia <small>(NAME)</small>		FIRMA (C.F.): <small>(SIGNATURE)</small> 	
ACEPTADO INSPECCIÓN FINAL: <input checked="" type="checkbox"/> <small>(ACCEPTED BY FINAL INSPECTION)</small>		FECHA: 15/01/2019 <small>(DATE)</small>	
NOMBRE (I.F.): Carlos Peral <small>(NAME)</small>		FIRMA (I.F.): <small>(SIGNATURE)</small> 	
ACEPTADO POR DEROGACION: <input type="checkbox"/> N/A: <input checked="" type="checkbox"/> <small>(ACCEPTED BY DESVIATION)</small>		FECHA: <small>(DATE)</small>	
NÚMERO DE DEROGACIÓN : <small>(DEVIATION NUMBER)</small>			
ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD : <small>(QUALITY ASSURANCE)</small>		FIRMA (Q.A): <small>(SIGNATURE)</small>	

EQUIPOS DE MEDIDA UTILIZADOS EN PRUEBA/ MEASURING EQUIPMENT USED IN THE TEST		
DESCRIPCIÓN/ DESCRIPTION	Nº DE CONTROL/ CONTROL NUMBER	FECHA PRÓXIMA CALIBRACIÓN/ NEXT CALIBRATION DATE
Multi-Meter	1511275	04/07/2019
Flow Meter	2213-IM	10/12/2018
Concentration Meter	1914-IM	08/03/2019
Dielectric Strength Tester	1547-IM	28/08/2019
Protection Earth Tester	1547-IM	28/08/2019
Leakage Current Meter	1547-IM	28/08/2019
Manometer	2208-IM	08/06/2019

 SEDECAL <small>Sociedad Española de Electromedicina y Calibración S.L.</small>	INFORME DE INSPECCIÓN (INSPECTION REPORT) GENERADOR DE OZONO "OZONETTE"	Código: 108020TDR Revisión: 12 Fecha: 09/02/2018 Página: 2 de 8

I.- INSTRUCCIONES PRELIMINARES

(PRELIMINARY INSTRUCTIONS)

Performed



1.1.- Conformidad identificación.....
 (Identification Compliance)

COMPOSICIÓN DEL PRODUCTO CONTROL FINAL						
(PRODUCT COMPOSITION, FINAL CONTROL)						
Cant (Qty)	Descripción (Description)	Código (Part Number)	Rev. (Revision)	Número de Serie (Serial Number)	Available	N/A
1	OZONETTE	A10066-01	-	0ZT1464	<input checked="" type="checkbox"/>	
1	Electroválvula Proporcional PVQ13-5L-04-A SMC	52301038	-	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1	Regulador de Caudal de Gas	52301027	-	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1	Transformador HV Ozonette	A9462-03	D	N.A.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1	Transformador HV Ozonette	A9462-03	C	N.A.	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
1	Fuente de Alimentación XP POWER	53418063	-	1732 - 00554	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1	Control PCB	A10068-01	C	SD1828LKN	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

COMPOSICIÓN DEL PRODUCTO CONTROL FABRICACIÓN						
(PRODUCT COMPOSITION, MANUFACTURING CONTROL)						
Cant (Qty)	Descripción (Description)	Código (Part Number)	Rev. (Revision)	Número de Serie (Serial Number)	Available	N/A
1	Regulador de Oxígeno Integrado	A10053-01	-	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2	Catalizadores Verticales Mini	A10056-03	-	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1	Tubo Generador de Ozono Ozonette	A10021-02	-	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2	Electroválvula 2/2 24V VDW12JAL SMC	52301045	-	N.A.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1	Interfaz PCB con LCD Gráfico	50207029	-	1804 - 0463	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1	Ventilador 24Vdc 70 mA (NMB)	53103001	-	N.A.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1	Cable de alimentación (Europa)	51212005	-	N/A	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
1	Cable de alimentación (USA)	51212011	-	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1	Cable de alimentación (Chile)	51212013	-	N/A	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
1	Cable de alimentación (Gran Bretaña)	51212014	-	N/A	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
1	Cable de alimentación (China)	51212015	-	N/A	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

Performed



1.2.- Conformidad Software Instalado.....
 (Software Compliance)

SOFTWARE COMPOSITION			
Quantity	Description	Software Versions	OK
1	Interface Board	V0.R1.P3	<input checked="" type="checkbox"/>
1	Control Board	VU.R1.P2	<input checked="" type="checkbox"/>

II.- CONTROL PREVIO

(PREVIOUS CONTROL)

Performed



2.1.- Conformidad aspecto.....
 (Aspect Compliance)

2.2.- Conformidad del aspecto del Overlay.....
 (Aspect Overlay Compliance)

2.3.- Conformidad del aspecto de las tarjetas electrónicas.....
 (Aspect PCB Compliance)

2.4.- Conformidad con el test funcional previo.....
 (Compliance with Previous Functional test)



 Sociedad Española de Electromedicina y Control S.A.	INFORME DE INSPECCIÓN (INSPECTION REPORT) GENERADOR DE OZONO "OZONETTE"	Código: 108020TDR Revisión: 12 Fecha: 09/02/2018 Página: 3 de 8
--	---	--

III.- COMPROBACIONES MECANICAS (MECHANICAL CHECKING)

	Performed (Verificado)
3.1 <u>Conformidad Mecánica y de Montaje</u> (Assembly Compliance)	<input checked="" type="checkbox"/>
3.1.1 <u>Conformidad con la fijación de las PCBs electrónicas</u> (Compliance with Fixing of PCB)	<input checked="" type="checkbox"/>
3.1.2 <u>Conformidad con la fijación de la Tubo Generador de Ozono</u> (Compliance with Fixing of Ozone Chamber)	<input checked="" type="checkbox"/>
3.1.3 <u>Conformidad con la fijación del Transformador de Alta Tensión</u> (Compliance with Fixing of HV Transformer)	<input checked="" type="checkbox"/>
3.1.4 <u>Conformidad con el ruteado del Cableado</u> (Compliance with Routing of Wires)	<input checked="" type="checkbox"/>
3.1.5 <u>Conformidad con la fijación de los Conectores Neumáticos</u> (Compliance with Fixing of Pneumatic connectors)	<input checked="" type="checkbox"/>
3.1.6 <u>Conformidad con la fijación de los Catalizadores</u> (Compliance with Fixing of Catalysts)	<input checked="" type="checkbox"/>
3.1.7 <u>Conformidad con la fijación de los Conectores Eléctricos</u> (Compliance with Fixing of Electric connectors)	<input checked="" type="checkbox"/>
3.1.8 <u>Conformidad con la fijación de la Electroválvulas</u> (Compliance with Fixing of Electro-valves)	<input checked="" type="checkbox"/>
3.1.9 <u>Conformidad con la fijación del Bloque de entrada</u> (Compliance with Fixing of Input block)	<input checked="" type="checkbox"/>
3.1.10 <u>Conformidad con la fijación del Ventilador</u> (Compliance with Fixing of Fan)	<input checked="" type="checkbox"/>

IV.- COMPROBACIONES SEGURIDAD ELÉCTRICA (ELECTRIC SAFETY CHECKINGS)

	Performed (Verificado)
4.1.- <u>Rigidez Dieléctrica</u> (Dielectric Strength)	<input checked="" type="checkbox"/>

Equipo comprobado (Equipment tested)	Especificación (Specification)	Resultado (Results)
OZONETTE	@ 1500 Vac / 50Hz / 1minute	Pass <input checked="" type="checkbox"/>
	Dielectric test voltages applied <	1.53 kV

	Performed (Verificado)
4.2.- <u>Resistencia a Tierra</u> (Earth Bond Test)	<input checked="" type="checkbox"/>

Equipo comprobado (Equipment tested)	Especificación (Specification)	Medida (Measured)
OZONETTE	@ 25A < R < 0.100Ω	R = 0.004 Ω
		Pass <input checked="" type="checkbox"/>

	Measured (Medida)	Limit (Limite)	Performed (Verificado)
4.3.- <u>Test Corriente Fugas (Condición Normal)</u> (Leakage Current Test in Normal Condition)	0.055 mA	< 0.5mA	<input checked="" type="checkbox"/>
4.4.- <u>Test Corriente Fugas (Condición Primer Defecto)</u> (Leakage Current Test in Single Fault Condition)	0.114 mA	< 1.0mA	<input checked="" type="checkbox"/>
4.5.- <u>Comprobaciones Relativas a Tierras de Protección</u> (Checking related to Protection Earth Terminals)			<input checked="" type="checkbox"/>
4.6.- <u>Protección Tensiones Peligrosas</u> (Dangerous Voltages Protection)			<input checked="" type="checkbox"/>

 SEDECAL <small>Servicios Especializados de Electroreparación y Calibración S.A.</small>	INFORME DE INSPECCIÓN (INSPECTION REPORT) GENERADOR DE OZONO "OZONETTE"	Código: 108020TDR Revisión: 12 Fecha: 09/02/2018 Página: 4 de 8

- Performed**
(Verificado)
- 4.7.- Comprobaciones Rigidez Tubo Generador Ozono
(Conformity of Ozone Chamber Dielectric Strength)
- 4.8.- Comprobaciones Rigidez Transformador de Alta Tensión
(Conformity of HV Transformer Dielectric Strength)

V.- COMPROBACIONES ELECTRICAS

(ELECTRICAL CHECKING)

- Performed**
(Verificado)
- 5.1.- Comprobaciones Eléctricas Generales
(Electrical Checking)
- 5.1.1.- Comprobaciones ruteado cableado
(Routing Wire Checking)
- 5.1.2.- Comprobaciones de identificación de los conectores
(Checking of Identification in Wires and connectors)
- 5.2.- Alimentaciones y tensiones internas
(Power Supplies and internal voltages)

Control Board Testing Points	Acceptance Limits	Results
Supply of Control Board J10 (2+) & J10 (3-)	21.6 Vdc ≤ V ≤ 26.4 Vdc	24.29 Vdc
Supply of HV Transformer TP12 (+) & TP1(-)	21.6 Vdc ≤ V ≤ 26.4 Vdc	24.30 Vdc
Supply of HV Transformer TP13 (+) & TP1(-)	21.6 Vdc ≤ V ≤ 26.4 Vdc	24.30 Vdc
Supply of Fan J4 (1+) & J4(2-)	21.6 Vdc ≤ V ≤ 26.4 Vdc	23.45 Vdc
Voltage of Pressure Sensors TP5 (+) & TP1(-)	2.2 Vdc ≤ V ≤ 2.8 Vdc	2.67 Vdc
Voltage of Pressure Sensors TP6 (+) & TP1(-)	2.2 Vdc ≤ V ≤ 2.8 Vdc	2.67 Vdc
Voltage of Pressure Sensors TP5 (+) & TP6(-)	-600 mVdc ≤ V ≤ + 600 mVdc	0.002 mVdc
Interface Board Testing Points	Acceptance Limits	Results
Supply of Interface Board J3 (1+) & J3 (2-)	21.6 Vdc ≤ V ≤ 26.4 Vdc	24.30 Vdc

- Performed**
(Verificado)
- 5.3.- Comprobación Ventilador
(Fans Testing)

VI.- COMPROBACION SISTEMA NEUMÁTICO

(NEUMATIC CIRCUIT CHECKING)

- Performed**
(Verificado)
- 6.1.- Comprobación Estanqueidad del Circuito
(Pneumatic circuit checking and Hermetic seal Tests)

VII.- TEST DE CALIBRACIÓN DEL EQUIPO

(CALIBRATION TESTING)

- Performed**
(Verificado)
- 7.1.- Test Calibración y ajuste del generador de Ozono
(Ozone Generator Calibration Test)
- 7.1.1 Conformidad con el ajuste del Brillo
(Compliance with the Brightness adjust)
- 7.1.2 Conformidad con el ajuste del contraste
(Compliance with the Contrast adjust)
- 7.1.3 Conformidad con la versión de software instalado
(Compliance with the Software versions)

Quantity	Description	Software Versions	OK
1	Interface Board	V0.R1.P3	<input checked="" type="checkbox"/>
1	Control Board	V0.R1.P2	<input checked="" type="checkbox"/>

 SEDECAL <small>Sociedad Española de Recreación y Salud S.A.</small>	INFORME DE INSPECCIÓN (INSPECTION REPORT) GENERADOR DE OZONO "OZONETTE"	Código: 108020TDR Revisión: 12 Fecha: 09/02/2018 Página: 5 de 8
---	---	--

- Performed**
(Verificado)
- 7.1.4 Conformidad con la calibración del equipo**
(Compliance with the Calibration of the equipment)
- 7.1.4 a Conformidad con el ajuste de la presión atmosférica**
(Compliance with the Atmospheric Pressure adjust)
- 7.1.4 b Conformidad con el ajuste del flujo**
(Compliance with the Flow adjust)
- 7.1.4 c Conformidad con Calibración de la Concentración de Ozono**
(Compliance with the O3 Concentration Calibration)
- 7.1.4 d Conformidad con el ajuste del período**
(Compliance with the Flow adjust)
- 7.1.4 e Conformidad con el ajuste del Factor de Presión**
(Compliance with Pressure Factor Calibration)
- 7.1.4 f Conformidad con el Factor F.C.P.**
(Compliance with F.C.P. Factor)
- 7.1.4 g Conformidad con el Test de Ozono**
(Compliance with Ozone Test)
- 7.1.4 h Conformidad con la grabación de datos**
(Compliance with process of Save Parameters)
- 7.1.4 i Conformidad con la carga de parámetros de datos**
(Compliance with process of Load Parameters)
- 7.1.4 j Chequeo de los parámetros de Calibración**
(Checking of Calibration Parameters)

Data	Results	Data	Results	Data	Results
Pm	01503	P	00056	I	00013
FS	00000	0	-0021	L	00071
S	00100	0	00045	L	00211
S	00000	0	00002	L	00027
OS	00000	0	00002	L	00000
S	00100	0	-0033	L	00024
S	00100	0	-1750	L	00049
F32p1	p1	p2	00146	p3	00000

Performed
(Verificado)

- 7.1.5 Comprobación de los valores de Presión y Temperatura**
(Checking of Pressure and Temperature Values)

Pressure value		Temperature value	
Press 0	950 mbar	Temp	32 °C
Press 1	950 mbar		

VIII.- TEST DE SEGURIDAD

(SECURITY TEST)

- Performed**
(Verificado)
- 8.1.- Comprobación de la detección de errores**
(Checking Error Detection)
- 8.1.1.- Comprobación de detección Error de Caudal (ERROR 4)**
(Checking Flow Rate Error Detection)
- 8.1.2.- Comprobación de detección Sobrepresión**
(Checking Pressure Error Detection)
- 8.1.3.- Comprobación de la detección Error de fugas (ERROR 6)**
(Checking Leakage Error Detection)
- 8.1.4.- Comprobación de la detección Error de comunicación (ERROR 8)**
(Checking Communication Error Detection)
- 8.1.5.- Comprobación de la detección de Desconexión del Transformador (ERROR 10)**
(Checking Transformer disconnection Error)

 <small>Sociedad Española de Electromedicina y Control S.A.</small>	INFORME DE INSPECCIÓN (INSPECTION REPORT) GENERADOR DE OZONO "OZONETTE"	Código: 108020TDR Revisión: 12 Fecha: 09/02/2018 Página: 6 de 8
---	---	--

IX.- PRUEBA FUNCIONAL DEL EQUIPO

(OZONETTE FUNCTIONAL TESTING)

 Performed
 (Verificado)

 9.1.- Comprobación de la Puesta en Marcha

(Start-Up Testing)

 9.2.- Comprobación Programa JERINGA

(JERINGA Program Testing)

Jeringa 10ml:

Concentration Selection	Concentration Acceptance Limits	Concentration Measured	Dose Acceptance Limits	Dose applied	Results
5 µg/cm³	2.5 ≤ C ≤ 7.5 µg/cm³	5.1 µg/cm³	25 ≤ C ≤ 75 µg	50 µg	Pass <input checked="" type="checkbox"/>
10 µg/cm³	7.0 ≤ C ≤ 13.0 µg/cm³	10.4 µg/cm³	70 ≤ C ≤ 130 µg	100 µg	Pass <input checked="" type="checkbox"/>
20 µg/cm³	16.0 ≤ C ≤ 24.0 µg/cm³	21.7 µg/cm³	160 ≤ C ≤ 240 µg	200 µg	Pass <input checked="" type="checkbox"/>
40 µg/cm³	34.0 ≤ C ≤ 46.0 µg/cm³	41.7 µg/cm³	340 ≤ C ≤ 460 µg	400 µg	Pass <input checked="" type="checkbox"/>
60 µg/cm³	52.0 ≤ C ≤ 68.0 µg/cm³	60.7 µg/cm³	520 ≤ C ≤ 680 µg	600 µg	Pass <input checked="" type="checkbox"/>
80 µg/cm³	70.0 ≤ C ≤ 90.0 µg/cm³	73 µg/cm³	700 ≤ C ≤ 900 µg	800 µg	Pass <input checked="" type="checkbox"/>

Jeringa 20ml:

Concentration Selection	Concentration Acceptance Limits	Concentration Measured	Dose Acceptance Limits	Dose applied	Results
5 µg/cm³	2.5 ≤ C ≤ 7.5 µg/cm³	6.1 µg/cm³	50 ≤ C ≤ 150 µg	100 µg	Pass <input checked="" type="checkbox"/>
10 µg/cm³	7.0 ≤ C ≤ 13.0 µg/cm³	11.3 µg/cm³	140 ≤ C ≤ 260 µg	200 µg	Pass <input checked="" type="checkbox"/>
20 µg/cm³	16.0 ≤ C ≤ 24.0 µg/cm³	21.3 µg/cm³	320 ≤ C ≤ 480 µg	400 µg	Pass <input checked="" type="checkbox"/>
40 µg/cm³	34.0 ≤ C ≤ 46.0 µg/cm³	41.2 µg/cm³	680 ≤ C ≤ 920 µg	800 µg	Pass <input checked="" type="checkbox"/>
60 µg/cm³	52.0 ≤ C ≤ 68.0 µg/cm³	63 µg/cm³	1040 ≤ C ≤ 1360 µg	1200 µg	Pass <input checked="" type="checkbox"/>
80 µg/cm³	70.0 ≤ C ≤ 90.0 µg/cm³	81.4 µg/cm³	1400 ≤ C ≤ 1800 µg	1600 µg	Pass <input checked="" type="checkbox"/>

Jeringa 50ml:

Concentration Selection	Concentration Acceptance Limits	Concentration Measured	Dose Acceptance Limits	Dose applied	Results
5 µg/cm³	2.5 ≤ C ≤ 7.5 µg/cm³	6.3 µg/cm³	125 ≤ C ≤ 375 µg	250 µg	Pass <input checked="" type="checkbox"/>
10 µg/cm³	7.0 ≤ C ≤ 13.0 µg/cm³	11.2 µg/cm³	350 ≤ C ≤ 650 µg	500 µg	Pass <input checked="" type="checkbox"/>
20 µg/cm³	16.0 ≤ C ≤ 24.0 µg/cm³	21.4 µg/cm³	800 ≤ C ≤ 1200 µg	1000 µg	Pass <input checked="" type="checkbox"/>
40 µg/cm³	34.0 ≤ C ≤ 46.0 µg/cm³	42 µg/cm³	1700 ≤ C ≤ 2300 µg	2000 µg	Pass <input checked="" type="checkbox"/>
60 µg/cm³	52.0 ≤ C ≤ 68.0 µg/cm³	61.6 µg/cm³	2600 ≤ C ≤ 3400 µg	3000 µg	Pass <input checked="" type="checkbox"/>
80 µg/cm³	70.0 ≤ C ≤ 90.0 µg/cm³	83.7 µg/cm³	3500 ≤ C ≤ 4500 µg	4000 µg	Pass <input checked="" type="checkbox"/>

Jeringa 100ml:

Concentration Selection	Concentration Acceptance Limits	Concentration Measured	Dose Acceptance Limits	Dose applied	Results
5 µg/cm³	2.5 ≤ C ≤ 7.5 µg/cm³	5.6 µg/cm³	250 ≤ C ≤ 750 µg	500 µg	Pass <input checked="" type="checkbox"/>
10 µg/cm³	7.0 ≤ C ≤ 13.0 µg/cm³	11.6 µg/cm³	700 ≤ C ≤ 1300 µg	1000 µg	Pass <input checked="" type="checkbox"/>
20 µg/cm³	16.0 ≤ C ≤ 24.0 µg/cm³	21.3 µg/cm³	1600 ≤ C ≤ 2400 µg	2000 µg	Pass <input checked="" type="checkbox"/>
40 µg/cm³	34.0 ≤ C ≤ 46.0 µg/cm³	43 µg/cm³	3400 ≤ C ≤ 4600 µg	4000 µg	Pass <input checked="" type="checkbox"/>
60 µg/cm³	52.0 ≤ C ≤ 68.0 µg/cm³	65.8 µg/cm³	5200 ≤ C ≤ 6800 µg	6000 µg	Pass <input checked="" type="checkbox"/>
80 µg/cm³	70.0 ≤ C ≤ 90.0 µg/cm³	82.4 µg/cm³	7000 ≤ C ≤ 9000 µg	8000 µg	Pass <input checked="" type="checkbox"/>

 SEDECAL <small>Sociedad Española de Electrometría y Calibración S.A.</small>	INFORME DE INSPECCIÓN (INSPECTION REPORT) GENERADOR DE OZONO "OZONETTE"	Código: 108020TDR Revisión: 12 Fecha: 09/02/2018 Página: 7 de 8

 Performed
 (Verificado)

9.3.- Comprobación Programa OZONO CONTINUO

(CONTINUOUS OZONE Program Testing)



Test	Concentration Selection	Acceptance Limits	Concentration Measured	Flow Rate Selection	Acceptance Limits	Flow Rate Measured	Results
A	10 µg/cm ³	7.0 ≤ C ≤ 13µg/cm ³	11.4 µg/cm ³	30 L/h	27L/h ≤ F ≤ 33L/h	30.6 L/h	Pass <input checked="" type="checkbox"/>
	Volume Measured		Acceptance Limits	Dose Measured	Acceptance Limits		
	998 mL		825 mL ≤ V ≤ 1191 mL	9980 µg	5775µg ≤ D ≤ 15483 µg		
B	60 µg/cm ³	52 ≤ C ≤ 68 µg/cm ³	61.6 µg/cm ³	50 L/h	45 L/h ≤ F ≤ 55L/h	46.8 L/h	Pass <input checked="" type="checkbox"/>
	Volume Measured		Acceptance Limits	Dose Measured	Acceptance Limits		
	1667 mL		1375 mL ≤ V ≤ 1986 mL	100020 µg	71500µg ≤ D ≤ 135048 µg		
C	80 µg/cm ³	70 ≤ C ≤ 90µg/cm ³	79.6 µg/cm ³	30 L/h	27L/h ≤ F ≤ 33L/h	30.6 L/h	Pass <input checked="" type="checkbox"/>
	Volume Measured		Acceptance Limits	Dose Measured	Acceptance Limits		
	1001 mL		825 mL ≤ V ≤ 1191 mL	80080 µg	57750µg ≤ D ≤ 107190 µg		

 Performed
 (Verificado)

9.4.- Comprobación Programa MANUAL

(MANUAL Program Testing)



Test	Concentration Selection	Acceptance Limits	Concentration Measured	Flow Rate Selection	Acceptance Limits	Flow Rate Measured	Results
A	10 µg/cm ³	7.0 ≤ C ≤ 13µg/cm ³	11.5 µg/cm ³	30 L/h	27L/h ≤ F ≤ 33L/h	30.7 L/h	Pass <input checked="" type="checkbox"/>
	Volume Measured		Acceptance Limits	Dose Measured	Acceptance Limits		
	mL		825 mL ≤ V ≤ 1191 mL	µg	5775µg ≤ D ≤ 15483 µg		
B	60 µg/cm ³	52 ≤ C ≤ 68 µg/cm ³	62.4 µg/cm ³	50 L/h	45 L/h ≤ F ≤ 55L/h	46.8 L/h	Pass <input checked="" type="checkbox"/>
	Volume Measured		Acceptance Limits	Dose Measured	Acceptance Limits		
	1669 mL		1375 mL ≤ V ≤ 1986 mL	100140 µg	71500µg ≤ D ≤ 135048 µg		
C	80 µg/cm ³	70 ≤ C ≤ 90µg/cm ³	80.2 µg/cm ³	30 L/h	27L/h ≤ F ≤ 33L/h	L/h	Pass <input checked="" type="checkbox"/>
	Volume Measured		Acceptance Limits	Dose Measured	Acceptance Limits		
	1005 mL		825 mL ≤ V ≤ 1191 mL	80400 µg	57750µg ≤ D ≤ 107190 µg		

X.- PRUEBA DE STANDBY

(STANDBY TEST)

 Performed
 (Verificado)

10.1.- Prueba de Standby

(Standby Test)



 <small>Sociedad Española de Decretados y Calibrados S.A.</small>	INFORME DE INSPECCIÓN <small>(INSPECTION REPORT)</small> GENERADOR DE OZONO "OZONETTE"	Código: 108020TDR Revisión: 12 Fecha: 09/02/2018 Página: 8 de 8
---	--	--

XI.- TERMINACION
(FINAL TASKS)

	Performed <i>(Verificado)</i>
11. Tareas de Terminación del Equipo <i>(Finished Equipment Tasks)</i>	<input checked="" type="checkbox"/>
11.1 • Conformidad de Control de Aspecto <i>(Conformity with Aspect Control)</i>	<input checked="" type="checkbox"/>
11.2 • Etiquetas Características en Ozonette correctamente pegadas e identificadas <i>(Characteristic Labels stuck on Ozonette)</i>	<input checked="" type="checkbox"/>
11.3 • INFORME DE INSPECCIÓN COMPLETO 108020TDR <i>(Inspection Report Filed 108020TDR- Send a copy with equipment)</i>	<input checked="" type="checkbox"/>
11.4 • Conformidad Documentos de Acompañamiento <i>(Conformity of Accompanying Documents)</i>	<input checked="" type="checkbox"/>
- Registro de Defectos e Incidencias del equipo..... <i>(Defects and incidents registration of Device)</i>	<input checked="" type="checkbox"/>
- Especificaciones de Fabricación (Ref.: Informe Configuración Fábrica)..... <i>(Manufacturing specifications)</i>	<input checked="" type="checkbox"/>
- Bolsa Manuales Sellada con Hoja Conformidad Manuales firmado y sellada <i>(Manuals bag sealed and document of conformity sealed and signed)</i>	<input checked="" type="checkbox"/>
• N° Serie del Equipo en bolsa de manuales: <u> OZT1464 </u> <i>(Serial number of Ozonette)</i>	
11.5 • Revisión Registros de Prueba <i>(Testing Reports Review)</i>	<input checked="" type="checkbox"/>
11.6 • Cable Alimentación <i>(Power Supply cable)</i>	<input type="checkbox"/> N/A <input checked="" type="checkbox"/>
11.7 • Accesorios <i>(Accessories)</i>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>

ANEXO 3. Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	INSTRUMENTO	DISEÑO	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	
Problema general:	Objetivo general	Si el agua ozonizada tiene propiedades antimicrobianas, entonces es probable que sea más efectiva contra el <i>Enterococcus Faecalis</i> y menos dañina para los tejidos que el hipoclorito de sodio.	EFFECTIVIDAD ANTIMICROBIANA	Depende de la cantidad de colonias formadas en la muestra obtenida, recolectada en la ficha de recolección de datos.	Experimental: porque intervenimos en las variables para poder observar los resultados siendo la efectividad bacteriostática nuestra variable independiente la efectividad bacteriostática y la variable dependiente las diferentes concentraciones que utilizaremos.	DESCRIPTIVA: Se utilizarán medidas de resumen cualitativas como frecuencias y porcentajes, los cuales serán presentados en tablas de contingencia y gráficos de barras compuestas	
¿Cuál es la efectividad antimicrobiana del ozono en cepas de <i>enterococcus faecalis</i> ?	Comparar la efectividad antimicrobiana del agua ozonizada a 16 ug/ml y 40 ug/ml y el hipoclorito de sodio al 2,5% en la inhibición de <i>Enterococcus faecalis</i> .		INDICADORES:	DISPOSITIVO OZONIZADOR DE AGUA	Prospectivo: porque los eventos ocurren durante el estudio a realizar.	INFERENCIAL	
	Objetivos específicos		- UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS		Longitudinal: se realizarán medidas de unidades formadoras de colonias antes y después de utilizar las sustancias irrigantes.		
	PROBLEMA		AGUA OZONIZADA		Se elaboró una base de datos en Excel y el análisis estadístico de los datos se realizó con el programa Stata v15.0		
	-Identificar la actividad antimicrobiana del agua ozonizada a 40 ug/ml frente a <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212.		INDICADORES:				Se obtuvieron medidas de resumen (media, desviación estándar, mediana, mínimo, máximo) para cada medición. Se elaboró grafica de caja y bigote (boxplot) para cada tabla.
	-Identificar la actividad antimicrobiana del hipoclorito 2,5% frente a <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212		CONCENTRACIÓN				Para comparar entre las dos muestras con agua ozonizada al 16 y 40 ug/ml se utilizó la prueba de comparación de rangos de Wilcoxon por tratarse de mediciones con mucha dispersión. El nivel de significancia que se empleó fue de 0.05.
	-Comparar la actividad antimicrobiana entre la concentración al 16 ug/ml y 40 ug/ml de agua ozonizada frente a <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212		HIPOCLORITO				
-Identificar la actividad antimicrobiana del suero fisiológico frente al <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	INDICADORES						
-Comparar la actividad antimicrobiana entre suero fisiológico y cada una de las concentraciones 16 ug/ml y 40 ug/ml de agua ozonizada.	CONCENTRACION						

Anexo 4. Autorización para realizar la investigación en el Hospital nacional Hipólito Unanue

	PERÚ	Ministerio de Salud	Hospital Nacional "Hipólito Unanue"	Comité Institucional de Ética en Investigación
---	------	---------------------	-------------------------------------	--

"Año del Diálogo y Reconciliación Nacional "

CARTA N° 199 – 2018 - CIEI-HNHU

A : **KIMBERLY ANTUANET VALVERDE GUTIERREZ**

ASUNTO : **Aprobación de Proyecto de tesis**

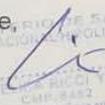
Referencia : Expediente N° 35957

FECHA : El Agustino, 26 diciembre del 2018

Es grato dirigirme a usted, para saludarle cordialmente y dar respuesta al documento de referencia donde solicita revisión y aprobación del Proyecto de tesis titulado: **"Efectividad antimicrobiana del agua ozonizada a diferentes concentraciones comparado con el hipoclorito de sodio en cepa de enterococcus faecalis in vitro"**. Para optar el título profesional de Cirujano Dentista - UNFV.

El Comité, en sesión ordinaria del miércoles 19 de diciembre del presente año, según consta en el Libro de actas N° 6, acordó por unanimidad aprobar el Proyecto de tesis antes mencionado.

Atentamente,


DRA. ANGE LICA RICCI VAURIVILCA
CMI 25452
Presidenta del Comité de Ética en Investigación.

Avenida César Vallejo N° 1390 distrito El Agustino - Lima - Perú
Correo electrónico : ciei@hnhu.gob.pe - angelicaricci05@yahoo.es Teléfono: 2919092 , 3627777 anexo 2196

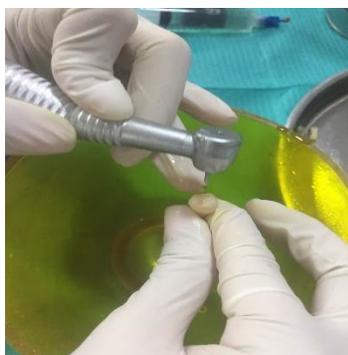
Anexo 5. Fotografías



Piezas dentarias seleccionadas.

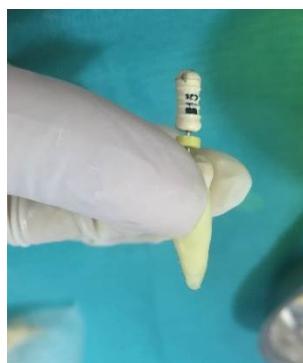


Piezas dentarias seleccionadas.



Preparación piezas

Dentarias.



Conductimetría.



Colocación del tope de resina.



Preparación del caldo BHI.



Colocación de la disolución.
en el espectrofotómetro.



Colocación de las muestras



Muestras listas para
Incubarse.



Maquina ozonizadora.



Producción de agua

Ozonizada.



ozonizada.



Preparación del campo.



. Instrumentación.



Irrigación.

Colocación
del cono de papel.Colocación de los conos de papel en las
disoluciones.Extracción de la
de la disolución con la pipeta.

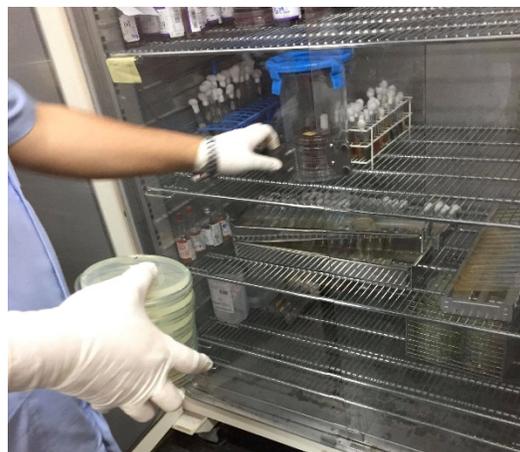
Colocación en el medio de cultivo



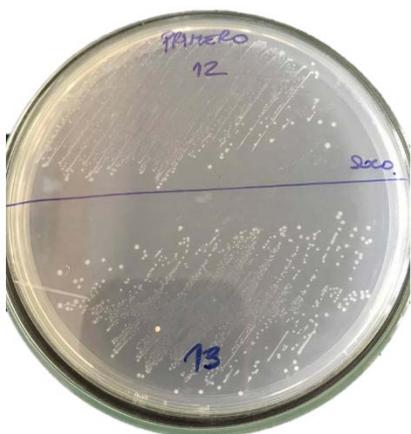
Placas Petri.



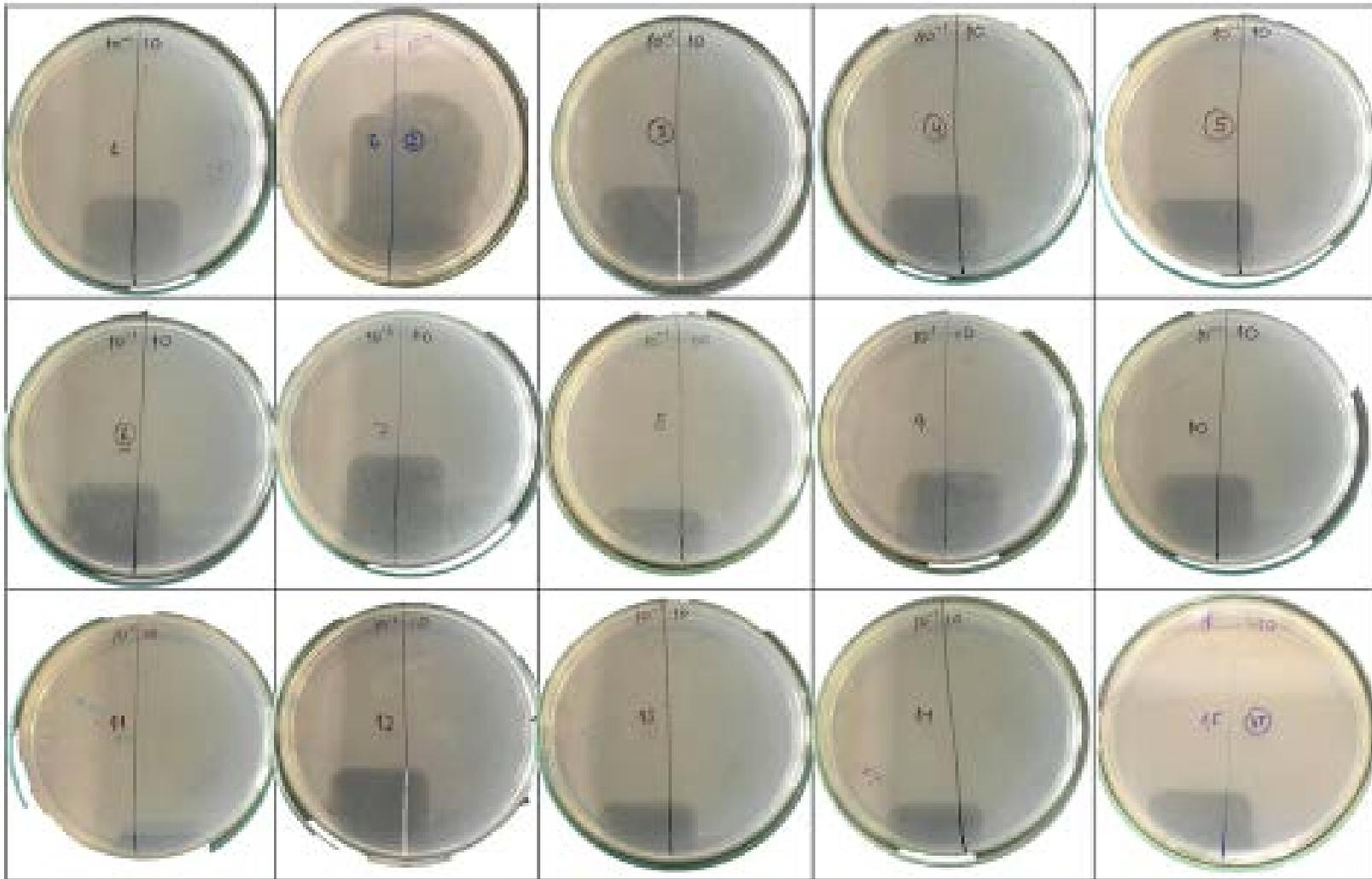
Incubadora.



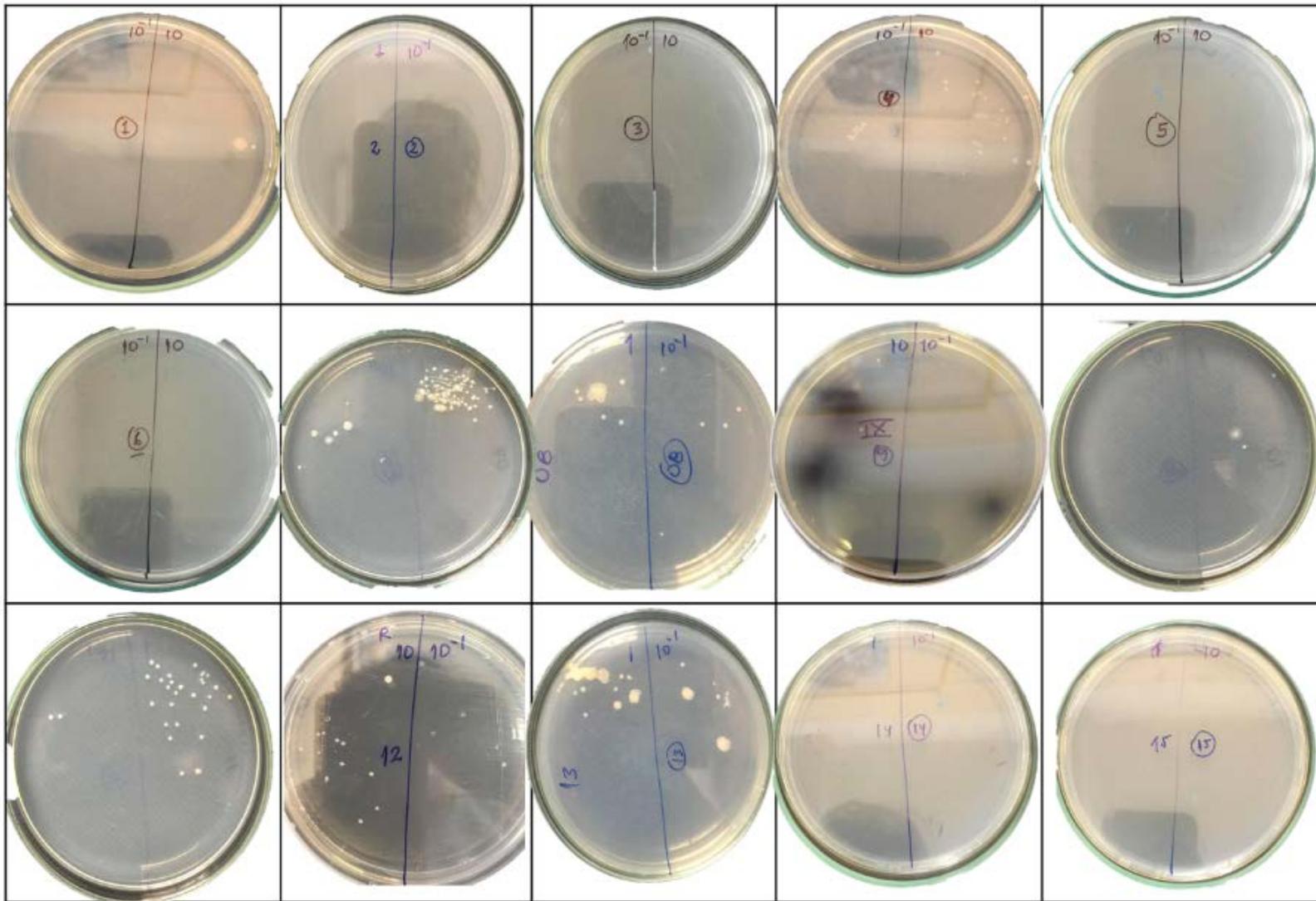
Colocación de las placas en la incubadora durante 48 h.



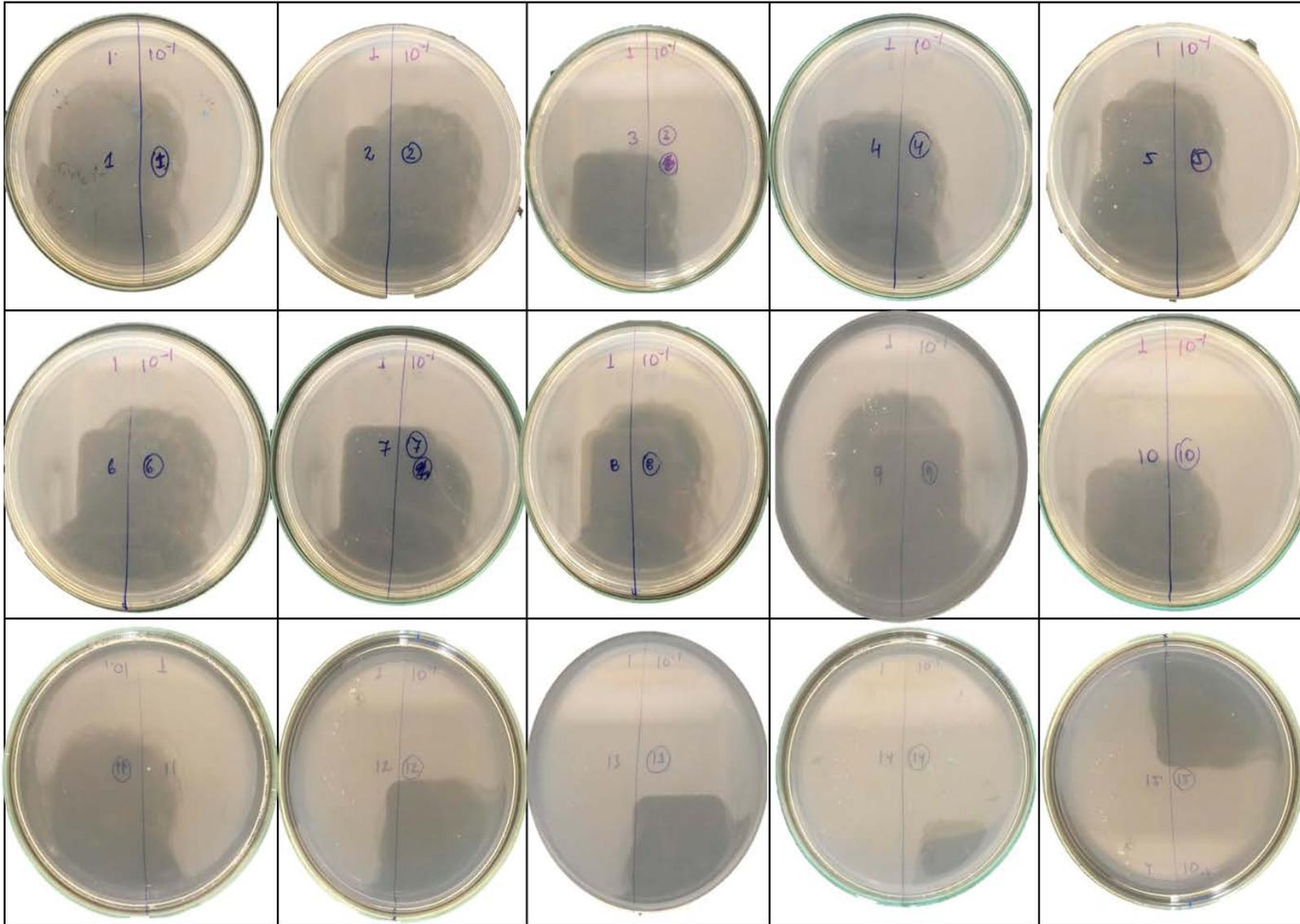
Placa con *Enterococcus faecalis*.



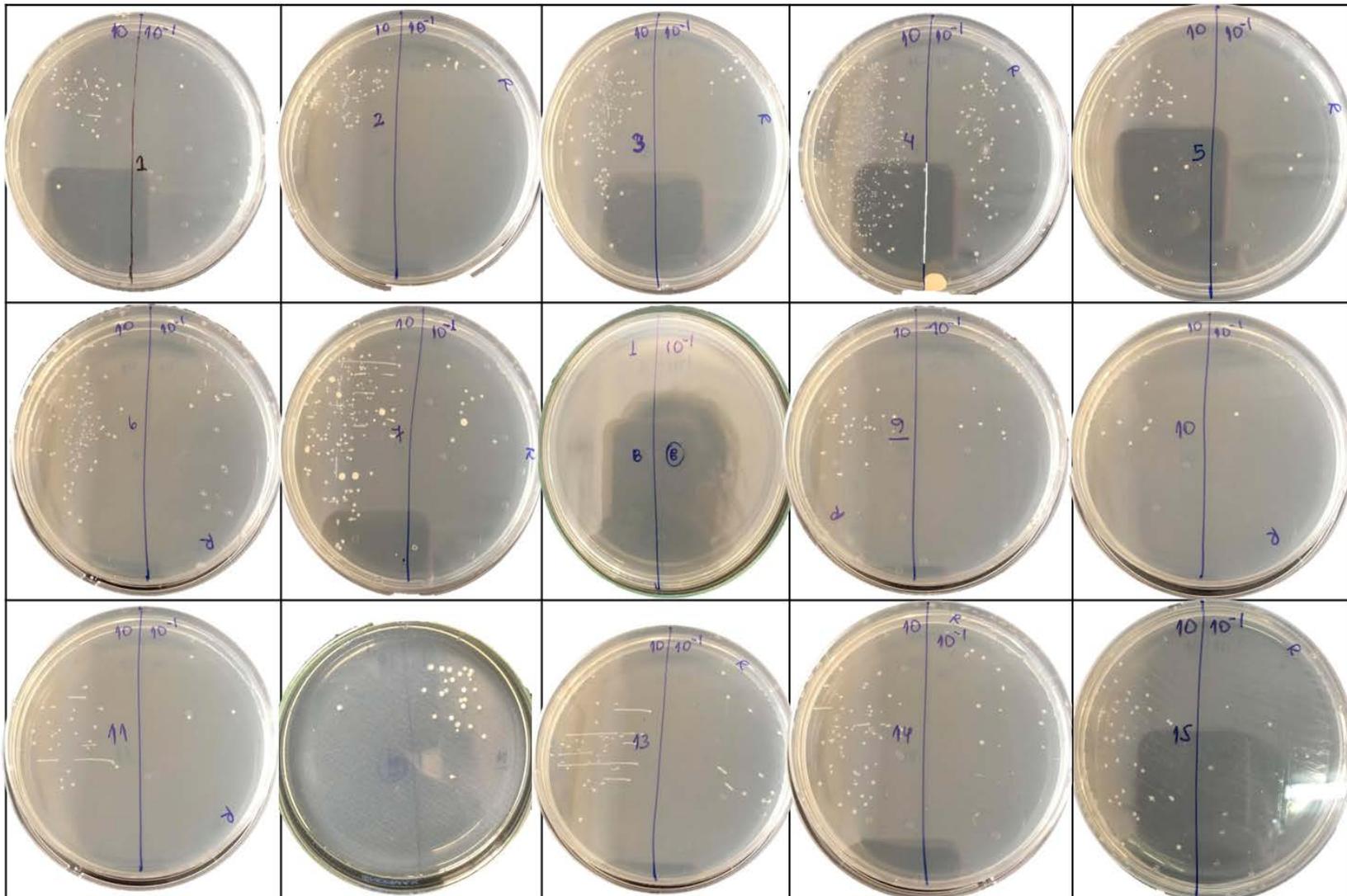
Muestras del crecimiento microbiano en las placas Petri con hipoclorito de sodio al 2,5% después de 48 horas.



Muestras del crecimiento microbiano en las placas Petri con agua ozonizada 16 µg/ml después de 48 horas.



Muestras del crecimiento microbiano en las placas Petri con agua ozonizada 40 $\mu\text{g/ml}$ después de 48 horas.



Muestras de crecimiento microbiano en las placas Petri con suero fisiológico.