

**DETERMINACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE
TRES DIFERENTES MARCAS DE HIDRÓXIDO DE CALCIO,
UTILIZANDO COMO VEHÍCULO LIDOCAÍNA AL 2%. 2003.**

TESIS PRESENTADA POR:

JOSÉ DAVID CHAY SALAS

ANTE EL TRIBUNAL DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA QUE PRACTICÓ EL
EXAMEN GENERAL PÚBLICO PREVIO A OPTAR AL TÍTULO DE :

CIRUJANO DENTISTA

GUATEMALA, MAYO 2003.

DL
09
T(1679)

**JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

| | |
|-----------------------|------------------------------|
| Decano: | Dr. Carlos Alvarado Cerezo |
| Vocal Primero: | Dr. Manuel Miranda Ramírez |
| Vocal Segundo: | Dr. Alejandro Ruiz Ordóñez |
| Vocal Tercero: | Dr. Cesar Mendizábal Girón |
| Vocal Cuarto: | Br. Ricardo Hernández Gaitán |
| Vocal Quinto: | Br. Roberto Wehncke Azurdia |
| Secretario: | Dr. Otto Raúl Torres Bolaños |

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PÚBLICO

| | |
|-----------------------|----------------------------------|
| Decano: | Dr. Carlos Alvarado Cerezo |
| Vocal Primero: | Dr. César Mendizábal Girón |
| Vocal Segundo: | Dr. Werner Florián Jerez. |
| Vocal Tercero: | Dr. Luis Felipe Paz García-Salas |
| Secretario: | Dr. Otto Raúl Torres Bolaños |

ACTO QUE DEDICO

**Al Padre, al Señor Jesús
y al Espíritu Santo:**

Por Sentir su presencia cada día de mi vida,
y sin Él no fuera nada.

A mis Padres:

José F. Chay Torres y Elsa Cristina Salas,
Por ser los seres más importantes en mi vida,
y por dejarse usar por Dios para formarme.
¡Gracias!

A mi Abuelita:

“Nayita” por ser la mujer mas linda que hay
sobre la tierra, y haber dedicado su vida por
mi.

A mis Hermanos:

David y Alex Chay, porque son un regalo
que Dios me dio.

A mi Familia:

“Tío Paquín”, “tío Luis” , “tía Cristina”,
“papa Arturo”, “tía Elsa”, “tía Marilú”, “tía
Pía” “tío Jorge” a mis primos y primas.

Al Dr. Sergio Cuevas:

Por ser un amigo muy especial, un gran
ejemplo y darme la oportunidad de
formarme como dentista.

A mi novia:

Ingrid Baján por ser una bendición para mi
vida.

A mis Amigos:

Evelyn G. de Kleé, Ubaldo Álvarez, Julio
Boj, Fredy Barrios, Ramiro Martínez, Leonel
Hernández, Heidy Martínez, Luis Melgar,
Julio Conde, Nelson Dávila, Astrid Ramírez,
Otto Reyes, Luis P. Hernández, Raymundo
Rodríguez, José Ordóñez, Juan C. Fuentes,
Xiomara Solís.

RECONOCIMIENTO

- Al Señor:** Por estar siempre conmigo.
- A mis Padres:** José F. Chay . y Elsa C. Salas por su ayuda y apoyo incondicional.
- A mi Abuelita:** Bernarda Quiñónez Coronado por su ejemplo de amor y trabajo.
- A mi Abuelito:** Arturo Salas por su ejemplo y consejo.
- A mi Patria:** Guatemala.
- A la Universidad de San Carlos de Guatemala:** Por ser la casa de estudios que me formó como profesional.
- A mis catedráticos:** Por sus conocimientos, consejo y cariño.
- A mi asesor:** Dr. Werner Florián J. por el apoyo en la realización de la tesis.
- A mi Pastor:** Sergio G. Enriquez Oliva, por ser mi guía espiritual durante todo este tiempo.
- A mi Amigo:** Erwin L. Cano y a su familia por ser un regalo de Dios en mi vida.
- Al hospital de Accidentes Del IGSS:** Por haberme autorizado a utilizar las instalaciones _ del Laboratorio y un reconocimiento al Dr. Guillermo Carrillo por su apoyo técnico en la investigación.

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

Tengo el honor de someter a su consideración mi trabajo de tesis titulado: "DETERMINACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE TRES DIFERENTES MARCAS DE HIDRÓXIDO DE CALCIO, UTILIZANDO COMO VEHÍCULO LIDOCAINA AL 2%, 2003".

Conforme lo demandan los estatutos de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala, previo a optar al título de:

CIRUJANO DENTISTA

Expreso mi agradecimiento a mi asesor Dr. Werner Florián por su valiosa colaboración en este trabajo.

Al Lic. Guillermo Carrillo por su colaboración en el desarrollo del trabajo de campo, y a ustedes distinguidos miembros del Honorable Tribunal Examinador, sírvase aceptar las muestras de mi mas alta consideración y respeto.

ÍNDICE

| | Páginas |
|---------------------------------|---------|
| SUMARIO..... | 1 |
| INTRODUCCIÓN..... | 2 |
| PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA..... | 4 |
| JUSTIFICACIÓN..... | 5 |
| REVISIÓN DE LITERATURA..... | 6 |
| HIPÓTESIS..... | 30 |
| OBJETIVOS..... | 31 |
| VARIABLES..... | 32 |
| METODOLOGÍA..... | 35 |
| PRESENTACIÓN DE RESULTADOS..... | 41 |
| DISCUSIÓN DE RESULTADOS..... | 58 |
| CONCLUSIONES..... | 60 |
| RECOMENDACIONES..... | 62 |
| LIMITACIONES..... | 63 |
| BIBLIOGRAFÍA..... | 64 |

SUMARIO

El objetivo del presente trabajo fue realizar un estudio de tres distintas marcas de hidróxido de calcio USP y observar su efecto antibacteriano al mezclarlo con solución de lidocaína al 2% sobre las cepas: *Clostridium perfringens*, *Clostridium sordellii*, *Fusobacterium nucleatum* y *Staphylococcus aureus*.

Se realizó a cabo *in Vitro*, en el laboratorio de Microbiología del Hospital General de Accidentes del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social. Se procedió a la preparación de los cultivos de cada una de las cepas, las cuales se encontraban liofilizadas. Se inoculó en cajas de petri que contenían el medio de Schaedler con las cuatro cepas. Después se colocó en cajas de petri los discos de papel filtro impregnados con Hidróxido de Calcio USP/ lidocaína al 2%, un disco seco y un disco con lidocaína como discos control. Este procedimiento se realizó tres veces con cada marca de Hidróxido de Calcio USP simultáneamente (marca A, marca B y marca C).

A las 72 horas, se observó el efecto inhibitorio de las tres marcas de Hidróxido de Calcio USP/ lidocaína al 2%.

Los resultados obtenidos indican que las tres marcas de Hidróxido de Calcio USP inhibieron a las cepas: *Clostridium perfringens*, *Clostridium sordellii*, *Fusobacterium nucleatum* y *Staphylococcus aureus*, teniendo mayor efecto sobre las cepas de *Clostridium perfringens* y *Clostridium sordellii* que sobre las cepas de *Fusobacterium nucleatum* y *Staphylococcus aureus*.

INTRODUCCIÓN

Los irritantes pulpaes como calor, trauma, caries, enfermedad periodontal etc. Son la causa de las afecciones del órgano pulpar. Lo cual conlleva a la realización de tratamientos radicales desde el punto de vista pulpar como lo es el tratamiento endodóntico. Las afecciones pulpaes de tipo irreversible son la consecuencia de irritantes pulpaes.

Los tratamientos endodónticos que se realizan en la cavidad oral son debidos fundamentalmente a contaminación bacteriana en el órgano pulpar que provocan alteraciones de tipo irreversible de tal manera que es necesario el tratamiento pulpar para evitar mayores complicaciones fuera del sistema de conductos y que puedan llegar a producir lesiones gingivales más difíciles de solucionar.(14)

Se sabe que las lesiones perirradiculares, primarias o secundarias, son causadas por microorganismos que producen infecciones pudiendo mencionar: *Pophyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Streptococcus*, *Bacteroides*, *Treponema Denticola*, etc. Debido al rol tan crítico que juegan estos microorganismos en las lesiones perirradiculares y en la salud de los pacientes, la técnica endodóntica es considerada de suma importancia y como la única alternativa para mantener una buena salud a nivel periapical.

La medicación intraconducto con hidróxido de calcio USP sustancia química conocida como una de los más importantes agentes antimicrobianos utilizados en la terapia endodóntica. En este estudio se relaciona el efecto antimicrobiano que tienes este medicamento con el control de las cepas anaeróbicas.(9,14)

Los profesionales de la odontología, debe de tener muy claro, la importancia del rol que los microorganismos juegan en la patogenia de las lesiones perirradiculares. (14,4)

En el presente trabajo, se evaluó el efecto antimicrobiano del Hidróxido de calcio químicamente puro, sobre el cultivo de bacterias anaerobias que afectan los conductos radiculares y hacer la comparación entre tres diferentes fórmulas comerciales de Hidróxido de calcio, para demostrar cual de los tres, posee mayor efectividad.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las bacterias y sus subproductos que estimulan reacciones orgánicas son las causas principales de las alteraciones patológicas en los canales radiculares y el área periapical.(4) La baja tensión del oxígeno, el suplemento de nutrientes y el descenso de los mecanismos naturales de defensa después de la necrosis pulpar benefician la integración de los microorganismos.

La disociación iónica del hidróxido de calcio en iones calcio e hidroxilo y sus efectos sobre las bacterias mediante la inhibición de las enzimas de la membrana citoplasmática y de los tejidos a través de la activación de la fosfatasa alcalina, le confieren sus propiedades antimicrobianas y mineralizantes.(4)

Los mecanismos antimicrobianos en la acción del hidróxido de calcio sobre la membrana citoplasmática de la bacteria, ocasiona alteraciones químicas de los componentes orgánicos, del transporte de nutrientes, y ocasiona efectos tóxicos en las células.(13)

Numerosos estudios reportan la acción antimicrobiana del hidróxido del calcio en diferentes microorganismos, por otro lado, existen diferentes marcas en el mercado de hidróxido de calcio USP, teniéndose la idea que todas tendrían las mismas características, sin embargo, surge la interrogante ¿Todos los hidróxidos de calcio que existen en mercado presentan la misma efectividad antimicrobiana?

JUSTIFICACIÓN

Los tratamientos endodónticos en piezas dentales, involucran siempre tres importantes pasos que nos garantizan controlar adecuadamente las infecciones dentro de los conductos radiculares o en la región apical de las piezas dentales, estos pasos son: Preparación quimiomecánica, medicación intraconducto y obturación de conductos radiculares. (4,14)

La medicación intraconducto se realiza en la facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos con Ca(OH)_2 desde hace unos siete años aproximadamente, no habiendo evaluado a la fecha el efecto de acción de este sobre bacterias anaeróbicas.

Por ello, es indispensable realizar un estudio que permita conocer cuál de las fórmulas de Hidróxido de Calcio químicamente puro utilizadas en este estudio es realmente más eficaz. De esta forma, este trabajo aporta valiosa información para conocer las diferentes marcas de Hidróxido de calcio, con el fin de brindar conocimiento sobre aquellos aspectos que haya necesidad de sostener, modificar o innovar dentro del proceso del tratamiento de conductos radiculares en lo que respecta a la medicación así como el conocimiento y práctica en el campo de la endodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

REVISIÓN DE LITERATURA

CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL HIDRÓXIDO DE CALCIO

Basado en la farmacopea de los Estados Unidos, el hidrato de calcio está compuesto por lo menos 95 por ciento de Ca(OH)_2 . El Hidróxido de Calcio se presenta en forma de polvo blanco y blando, de sabor algo amargo. Un gramo de Hidrato de Calcio se disuelve a 25°C en 630 cc. de agua, y en 1300 cc. de agua hirviente. Es soluble en glicerina y en jarabe, pero insoluble en alcohol. Su peso molecular es 74.10 representando el 54.09% de Calcio, 2.72% de Hidrógeno, el 43.10% de oxígeno.(5,13) El hidróxido de calcio en el campo odontológico y medico, se usa como astringente y antimicrobiano, pero además se utiliza como material de construcción, en lubricantes, pesticidas, pinturas de agua, en el tratamiento del agua y muchas cosas más. (5,8)

HIDRÓXIDO DE CALCIO UTILIZADO COMO MATERIAL DE APLICACIÓN DENTAL

El hidróxido de calcio como medicamento intraconducto, introducido por el dentista alemán, B.W. Hermann, en 1920, ha sido ampliamente utilizado en endodoncia. Es una sustancia alcalina muy fuerte con un pH aproximadamente de 12.5. Además, esta sustancia química es conocida como una de los más importantes agentes antimicrobianos utilizados durante la terapia endodóntica. (9,14)

La mayoría de agentes endopatógenos no están capacitados para sobrevivir en un ambiente altamente alcalino como el del Hidróxido de Calcio, de hecho un gran número de

especies de bacterias comúnmente encontradas en conductos radiculares infectados son eliminados después de un corto período de contacto directo con esa sustancia.(9)

El hidróxido de calcio no puede clasificarse como un antiséptico común, pero esta demostrada su eficacia clínica en la eliminación de microorganismos del espacio del conducto radicular. La pasta de hidróxido de calcio para aplicación intraconducto normalmente es una suspensión espesa de polvo de Ca(OH)_2 en agua estéril o solución salina. En tal suspensión de agua, menos de 0.2% de polvo disuelve en iones de calcio e hidroxilo. Dada su potente alcalinidad, esto produce una pasta con un pH de aproximadamente 12.5. el hidróxido de calcio en un medio no acuoso no hidroliza a menos que se añada un medio acuoso. Por tanto, el mejor vehículo para el hidróxido de calcio es una solución acuosa, dado que en condiciones normales el conducto radicular contiene sólo una pequeña cantidad de líquido. El agua estéril es el vehículo preferido para mezclar pasta de hidróxido de calcio. Se han propuesto muchos otros vehículos, como los anestésicos locales o los compuestos fenólicos.(9) Aunque los anestésicos acéticos locales con un pH entre 4 y 5, constituyen un agente de mezcla adecuado, debido a que el hidróxido de calcio es una base muy fuerte afectada minimamente por el ácido. El Cresatín y el paramonoclorofenol alcanforado contienen poca agua y proporcionan poca hidrólisis. La mezcla de polvo de Ca(OH)_2 con Cresatín produce la formación de cresilato de calcio y ácido acético, lo cual impide que el pH alcance los altos niveles óptimos. Sin suficiente agua disponible, el paramonoclorofenol alcanforado forma paraclorofenolato de calcio, evitando así una mayor hidrólisis.

Suele exteriorizarse gran preocupación sobre la vida de almacenamiento de los productos que contienen hidróxido de calcio. Cuando están expuestos por lapsos prolongados al CO_2 del aire, el Ca(OH)_2 se convierte en CaCO_3 , el cual es muy hidrosoluble y tiene un pH de 8. (9)

La utilidad superior de la pasta de hidróxido de calcio para la curación de heridas pulpares en la forma de recubrimiento pulpar o Pulpotomía, está bien descrita en estudios de investigación. No hay pruebas directas de que la pasta tenga efectos similares de inducción de tejido duro sobre los tejidos perirradiculares cuando se utiliza para estimular la apexificación o para tratar las lesiones óseas perirradiculares. El efecto en estos tejidos muy probablemente se relacione con la acción antimicrobiana de la pasta. Lo cual permite la cicatrización natural sin la irritación infecciosa. La pasta de hidróxido de calcio bien colocada también disminuiría el espacio disponible para que los fluidos histológicos entren en el espacio pulpar y con ello proporcionen nutrientes a las células bacterianas residuales. (9)

Hermann introdujo la pasta de hidróxido de calcio como agente antimicrobiano endodóntico en 1920. En un estudio clínico comparativo, Bystrom y cols., demostraron que la pasta de Ca(OH)_2 eliminaba eficazmente todos los microorganismos en los conductos radiculares infectados cuando la curación se mantenía durante cuatro semanas. Los compuestos fenólicos solo eran eficaces en dos tercios de los casos. En Indiana, se encontró básicamente lo mismo en un periodo más breve. En un estudio clínico de cinco años, Safavi y cols., comunicaron el Ca(OH)_2 era más eficaz que el yoduro de potasio para la desinfección de los conductos radiculares infectados, Safavi comunicó además que el hidróxido de calcio "hidroliza la mitad lipídica de los lipopolisacaridos bacterianos", los cuales, según se sabe, son factores importante en el proceso de resorción ósea. Esta degradación que el hidróxido de calcio produce en los lipopolisacaridos liberados por la lisis de la célula bacteriana, "podría ser una razón importante de los efectos beneficiosos que se obtienen con el hidróxido de calcio en la endodoncia clínica".

Todavía no se ha esclarecido el lapso necesario para obtener la desinfección optima con pasta de hidróxido de calcio, en condiciones clínicas. Es claro que cuatro semanas son

suficiente, pero Reit y Dahlen encontraron persistencia de la infección en 26% de los casos después de dos semanas de medicación, y Orstavik y cols., informaron sobre ocho de 23 conductos todavía infectados después de una semana de medicación intraconducto. En un estudio se produjo erradicación total de los microorganismos en una semana de curación. Sin embargo en este último estudio la instrumentación se complementó con ultrasonificación durante tres minutos, con el líquido de irrigación, antes de colocar la pasta de $\text{Ca}(\text{OH})_2$. (9) El pH alto de la pasta de hidróxido de calcio explica el efecto destructor de las membranas y estructuras proteínicas de la célula bacteriana. Pocas bacterias pueden sobrevivir a este pH. Los iones de OH^- no penetran con facilidad la dentina, en virtud de la capacidad amortiguadora de la hidroxiapatita, pero la exposición prolongada permite la saturación de aquella. En un estudio *in vitro* sobre la dentina infectada. Safavi y cols., demostraron que la pasta de hidróxido de calcio requería por lo menos 24 horas para la desinfección eficaz, en comparación con menos de 10 minutos al usar una solución de yodo.(9) En varios de los estudios *in vitro* en los que se valora la eficacia de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, se está utilizando *streptococcus faecium*, como microorganismo de prueba, por ser una bacteria resistente de desarrollo rápido, que a menudo se aísla de conductos radiculares. Esta es también una de las bacterias más resistentes a un pH alto. Sin embargo como patógeno endodóntico, *S. Faecium* reviste poca importancia. (9) Además de sus cualidades antimicrobianas, la pasta ayuda directa o indirectamente a la disolución del tejido pulpar necrótico. El tejido sumergido en hidróxido de calcio durante un día se disuelve con más facilidad con hipoclorito de sodio que el tejido no tratado. Las pruebas clínicas han demostrado que la curación intraconducto con pasta de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ USP, permite la limpieza de espacios canaliculares angostos mediante instrumentos a mano, resulta tan eficaz como cualquier método en que se utiliza el debridamiento ultrasónico. (9,14)

La mayoría de los endopatógenos no tienen la capacidad de sobrevivir en un ambiente altamente alcalino como el hidróxido de calcio, por esta razón muchas de estas especies de bacterias comúnmente encontradas en conductos radiculares infectados, son eliminados después de un corto periodo en contacto con esta sustancia. (14)

Aunque una considerable reducción en el número de células bacterianas en el conducto radicular ha sido alcanzada por los efectos mecánicos y químicos de la instrumentación e irrigación, aun se han encontrado por lo menos en la mitad de los casos presencia de bacterias. Al mismo tiempo, irregularidades anatómicas menores son usualmente incorporadas en la preparación. Estas áreas no son comúnmente afectadas por la preparación químico mecánica porque las limitaciones físicas inherentes de los instrumentos y el corto tiempo que los irrigantes están presentes en el conducto radicular. (14)

Investigaciones *In Situ*, han revelado que las bacterias pueden infectar los tubulillos dentinales que tienen un ancho de 10 a 300 μm . Las células bacterianas penetran a aproximadamente 200 a 300 μm . (7,14)

La actividad antimicrobiana del hidróxido de calcio esta relacionada con la liberación de los iones hidroxilo en un ambiente acuoso. Los iones hidroxilo son radicales libres que muestran una extrema reactividad, reaccionando con muchas moléculas. Esta actividad es alta e indiscriminada de estos radicales libres raramente difusos desde los sitios de generación.

Esos efectos letales en las células bacterianas son probablemente debido a los siguientes mecanismos:

1. Daño en la membrana citoplasmática bacterial

Los iones hidroxilo del hidróxido de calcio pueden inducir la peroxidación de los lípidos, resultando en la destrucción de fosfolípidos, componentes estructurales de la membrana celular. Los iones hidroxilo remueven los átomos de hidrógeno de los ácidos grasos insaturados, generando un radical libre lipídico. Este radical libre lipídico reacciona con oxígeno, resultando la formación de radical peróxido lipídico. De esta manera, los peróxidos por ellos mismos actúan como radicales libres, iniciando una reacción auto catalítica en cadena y resultando en la pérdida de ácidos de grasas insaturadas y un daño de membrana celular. (11,14)

2. Desnaturalización de las Proteínas

La alcalinización provista por el hidróxido de calcio, puede inducir la ruptura de los enlaces iónicos que mantienen la estructura ternaria de las proteínas. Como consecuencia, la enzima mantiene su estructura covalente; pero la cadena de polipéptido es disuelta en una conformación variable e irregular. Estos cambios frecuentemente resultan en la pérdida de la actividad biológica de la enzima, y la interrupción del metabolismo celular. Las proteínas estructurales pueden también ser dañadas por los iones hidroxilo. (4,14)

3. Daño al ADN

Los iones hidroxilo reaccionan con el ADN bacterial e inducen la división de las cadenas de las mismas. Luego los genes se pierden. Consecuentemente, la replicación del ADN es inhibida, y la actividad celular es desordenada. Los radicales libres también puede inducir mutaciones letales.

Muchos estudios han demostrado que el hidróxido de calcio demuestra efectos letales en células bacterianas. Los efectos óptimos fueron observados cuando la sustancia estuvo en contacto directo con las bacterias en solución. En esas condiciones, la concentración de los iones hidroxilo son muy altas, alcanzando incomparables niveles en la supervivencia bacterial. Clínicamente, este contacto directo no es siempre posible. (4,9,14)

MÉTODO DE APLICACIÓN DEL HIDRÓXIDO DE CALCIO USP

El hidróxido de calcio, ha surgido como una de las medicaciones intraconducto más importantes con que cuentan los endodoncistas para una desinfección leve pero fiable del espacio del conducto radicular. La pasta debe condensarse cuidadosamente en el conducto radicular para que sea eficaz. Es mejor introducirla con una léntula espiral, secarla con puntas absorbentes gruesas y empacarla con condensadores de conducto radicular de tamaño apropiado. A menudo este procedimiento tiene que repetirse para obtener una obturación densa. Ya que estas curaciones tienen en general una duración de una a dos semanas se debe considerar con reservas la eficacia del sello temporal. (9)

ASOCIACIONES DEL HIDRÓXIDO DE CALCIO

Desde 1964, Maisto & Capurro preconizaron el uso de una pasta de hidróxido de calcio asociado a yodoformo, en solución de metilcelulosa como "curativo de demora" en dientes permanentes con ápice abierto.

En 1964, Kaiser propuso, con el objetivo de aumentar el poder bactericida del hidróxido de calcio, en asociación con al paramonoclorofenol alcanforado produciendo la formación de una barrera de tejido mineralizado. (10)

PROPIEDADES TERAPÉUTICAS Y MECANISMO DE ACCIÓN DEL HIDRÓXIDO DE CALCIO

El hidróxido de calcio es considerado como portador de muchas de las propiedades de un relleno ideal de los canales radiculares, sí como el material clínico más exitoso para la estimulación de los procesos reparativos de la dentina subsiguiente a la exposición pulpar. (3)

Los materiales que contienen hidróxido de calcio han sido extensamente utilizados en la terapia endodóntica para estimular la apexificación, reparar perforaciones, promover la cicatrización por la formación horizontal de tejido y fracturas radiculares internas. (3)

El hidróxido de calcio se hizo popular debido a sus propiedades antimicrobianas y biológicas. Safavi, Nichols, y Bartel demostraron que el hidróxido de calcio tenía la capacidad de hidrolizar la porción lipídica de la bacteria lipopolisacárida promoviendo la degradación y el edema, lo cual altera las propiedades biológicas de la endotoxina. Contadiotis mostraron *in Vitro* que el hidróxido de calcio, por absorción del hidróxido de carbono, puede ayudar a la acción indirecta de los antimicrobianos sobre las bacterias anaerobias obligatorias y facultativas. Sjogren et al. (4) estudiaron el efecto antimicrobiano del hidróxido de calcio sobre muestras

bacteriológicas de 30 canales radiculares con necrosis pulpar y periodontitis apical. El estudio mostró que la bacteria que ha sobrevivido a la preparación biomecánica fue eliminada en 7 días. El Hidróxido de calcio es efectivo contra *fusobacterium nucleatum* después de solo 12 horas de contacto, siendo esta especie la más prevaeciente en las muestras del canal radicular, como previamente fue reportado por Sundqvist. (4)

Las lesiones tanto primaria como secundariamente causadas por microorganismos deben ser prevenidas o tratadas adecuadamente. Si el profesional esta versado en prevención y eliminación de la infección del canal radicular, el porcentaje de éxito de la terapia endodóntica puede exceder el 90%. (14)

PERSPECTIVAS HISTÓRICAS DE LA MICROBIOLOGÍA ENDODÓNTICA

En 1890, Willoughby D. Miller publicó el libro *Microorganisms of the human mouth*, que llegó a ser la base de la microbiología dental en Estados Unidos. En 1894, Miller se convirtió en el primer investigador en identificar bacterias en la pulpa enferma. En 1910, William Hunter, medico inglés, postuló que los microorganismos de una zona de infección localizada podrían diseminarse a otras partes del cuerpo y producir enfermedad general grave, entidad conocida como anacoresis. Esta idea es lo que se conoce de manera formal como la "teoría de la infección focal" durante años dificultó la aceptación de los tratamientos de conductos radiculares. Incluso en 1951, A. A. Knapp citó varios casos clínicos en los cuales pacientes con degeneración de la retina y ceguera se curaron con la extracción de varios dientes infectados. Cuando en estudios controlados se investigó esta suposición, la teoría de la infección focal llegó a su término.(9)

En 1939, e. Wilfred Fish investigó zonas en el tejido que se formaban en respuesta a la infección y reconoció cuatro áreas distintivas de reacción. Luego, Fish relacionó estos datos óseos con las infecciones de la pulpa dental. Postuló la teoría que cuando se encuentra un nido necrótico es preciso limitar la función de la cirugía a la eliminación del cuerpo extraño y a la zona necrótica o el secuestro. La infección no progresaría mas allá de las zonas de granulación. La investigación de Fish constituyó la base para el tratamiento endodóntico. (9,14)

La anacoresis llegó a ser otro campo de investigación en relación con el papel de las bacterias en el tratamiento del conducto radicular. Este término se define como el proceso mediante el cual colorantes, pigmentos, sustancias metálicas, bacterias, proteínas extrañas y otros materiales de la circulación sanguínea son atraídos a las zonas de inflamación circunscritas y ahí se fijan. Más tarde, Richard citó casos clínicos en los cuales bacterias de sitios extrabucuales se localizaban en las pulpas de piezas dentarias obturadas. (9)

El 1941, Robinson y Bolin citaron el desplazamiento de las bacterias sistémicas hacia las pulpas inflamadas. Los autores interpretaron su información en el sentido de que ciertos casos de pulpitis idiopática postoperatoria son resultado de la anacoresis: "Pulpitis anacorética". La anacoresis todavía es de interés para los facultativos actuales, en pacientes con endocarditis bacteriana relacionada con problemas dentales. (9)

La importancia real de las bacterias en el proceso de degeneración pulpar fue demostrada en el estudio clásico de Kakehashi, Stanley y Fitzgerald, en 1965. Estos investigadores no encontraron cambios patológicos en las pulpas expuestas o en los tejidos perirradiculares de ratas *gnatobióticas*. Sin embargo, en animales convencionales, las exposiciones pulpares dieron lugar a necrosis y formación de lesiones perirradiculares. Se concluyó que la presencia o ausencia de

flora microbiana era el principal factor determinante de la destrucción o de la reparación de pulpas de roedores expuestas. (9)

En 1981 Moller y cols, también ilustraron la importancia de las bacterias en la formación de patosis pulpar. En su estudio no se demostraron cambios perirradiculares en el tejido pulpar necrótico no infectado. Se encontraron reacciones inflamatorias perirradiculares, en los dientes infectados con bacterias. De nuevo, se demostró la importancia de estas en la génesis de la enfermedad pulpar y perirradicular. (9)

Sundqvist llevó a cabo un estudio crucial que pronosticó la relevancia de las bacterias y su relación con la enfermedad perirradicular. Una de las características distintivas es este estudio fue el análisis de bacterias tanto *aerobias* como *anaerobias*. Se encontraron cultivos positivos en todas las piezas dentales que en las radiografías mostraron destrucción perirradicular, a la inversa, no se encontraron cultivos positivos que tuvieron tejidos perirradiculares normales. Este investigador también observó que la inflamación aguda en la región perirradicular era inducida por combinaciones de cepas de bacterias y que la presencia de *bacteroides melaninogenicus* era esencial para el aumento de destrucción perirradicular. (9)

MICROBIOLOGÍA DE LA ENDODONCIA

La infección causada por la bacteria *actinomices israelí* es la causa más común de infecciones actinomicóticas, pero otras especies bucales de *actinomices* también han sido implicadas en las infecciones humanas. El *actinomices naeslundii* ha sido aislado de una variedad de lesiones del hombre, el *actinomices viscosus* de la una infección pleural y *Arachnia propiónica* organismo muy relacionado con el *actinomices*, proviene de una gran variedad de lesiones humanas. Si a la fecha no hay información, es porque las especies *actinomices* probablemente han sido implicadas en actinomicosis periapical. (3)

Los fundamentos acerca de la enfermedad pulpar y la muerte final de la pulpa dentaria se encuentran en la ciencia de la microbiología. Los clínicos deben conocer el efecto y la causa de la invasión bacteriana del espacio pulpar, lo que ocurre a las bacterias cuando se administra el tratamiento y las consecuencias finales cuando este concluye. (9)

Los microorganismos de probable significancia patogénica en infecciones endodónticas incluyen especies de *Porphyromonas*, *Prevotella*, *fusobacterium necleatum*, del grupo *streptococcus anginosus*, *Bacteroides forsythus*, *Treponema denticola*, *Peptostreptococcus*, *Eubacterium* y *Actinomyces*. Además, *enterococci pseudomonas*, levaduras, que pueden estar involucradas en una persistente o secundaria infección del conducto. (14)

La mayoría de los problemas pulpares y perirradiculares son enfermedades inflamatorias de etiología microbial. Los microorganismos y sus productos juegan un rol esencial en la inducción, progresión y la perpetuación de dichas enfermedades. Más de 150 especies microbianas han sido aisladas de conductos radiculares infectados, usualmente en infecciones mixtas consistiendo de cuatro a siete diferentes especies y con predominancia de bacterias anaerobias obligadas.

MEDIDAS PARA COMBATIR LAS INFECCIONES DEL CONDUCTO RADICULAR

Ya que la base del crecimiento bacteriano en el tejido pulpar necrótico y la liberación de metabolitos tóxicos son los responsables de la producción de lesiones periapicales, el objetivo de cualquier tratamiento que pretenda tener éxito está encaminado a eliminar las bacterias patógenas y sus productos metabólicos del interior del conducto radicular y a instaurar una situación que impide la reinfección. Resulta especialmente importante que el tratamiento se realice en condiciones asépticas y con instrumental estéril, con el fin de mantener alejadas las bacterias de la flora bucal. Los distintos aspectos del tratamiento antimicrobiano pueden agruparse de la siguiente forma:

1. Limpieza mecánica y preparación del conducto radicular con limas, y lavados desinfectantes.
2. Efecto antimicrobiano de los medicamentos (soluciones de lavado) empleados en la limpieza del conducto.
3. El efecto antimicrobiano de los medicamentos empleados como obturaciones provisionales entre dos sesiones.
4. Obturación hermética del conducto, para evitar la infección. (7)

Por lo tanto resulta necesario hacer un estudio donde se compruebe que los medicamentos desinfectantes han de permanecer durante periodos de tiempo relativamente largos en el conducto para satisfacer su misión de lograr un conducto estéril. (11,12)

PAPEL DE LAS BACTERIAS ANAEROBIAS EN LA ETIOPATOGENIA DE LA PATOLOGÍA PULPO-PERIAPICAL

Los microorganismos clasificados como *actinomices* son habitantes comunes de la cavidad bucal y región faríngea, las cuales pueden aislarse de los sitios como criptas tonsilares, placa dental, dentina cariada, surco gingival y bolsa periodontal. Estos microorganismos pueden ser patogénicos en la región bucal cuando son introducidos en tejidos suaves a través de las extracciones dentales y cirugía periodontal o profundas bolsas periodontales y fracturas de la mandíbula.(15)

Los microorganismos nativos de la cavidad bucal han sido aislados de las infecciones dentales del conducto radicular, así como los *actinomices*. El diagnóstico para identificar los *actinomices* fue basado en el descubrimiento de una sección de microorganismos en gram-positivo y agregaciones de organismos en una sección histológica de la lesión. En uno de estos casos como *actinomices Streptomyces* fueron aislados del canal radicular por medio de usar técnicas bacteriológicas. Los microorganismos patógenos nunca han sido identificados.

Los casos de patosis periapical y el efecto de la bacteria, con los síntomas clínicos, se encontró una relación positiva entre el crecimiento bacteriano y establecimiento de síntomas clínicos. *Peptococcus magnus* y especies *bacteroides* fueron encontrados en algunos casos clínicos agudos, al mismo tiempo que el *estreptococci oral*, *enterobacteria* fue aislada frecuentemente de casos sintomáticos. La patosis es considerada una infección endógena causada por la microflora bucal. Por los tanto muchas investigaciones han intentado aislar e identificar varios microorganismos de los conductos radiculares o región periapical, el criterio para los casos clínicos seleccionados no es definitiva excepto en los casos de pulpa necrótica y

absceso alveolar agudo. Igualmente los métodos para muestreo, cultivo e identificación cambian entre los investigadores.

Las innovadoras técnicas de laboratorio han permitido aislamiento e identificación de bacterias anaeróbicas y esto viene aclarar los de años recientes que esta bacteria puede ser aislada de los canales radiculares es en casos de lesiones periapicales con síntomas clínicos agudos. Las investigaciones hechas por Sundqvist reportaron que *peptoestreptococcus campylobacter*, son frecuentes en dientes con inflamación aguda periapical, como en dientes asintomáticos pero no se examinó la relación entre síntomas clínicos y distribuciones de la bacteria.

La mayor prevalencia de especies microbianas estrictamente anaeróbicas en las lesiones periapicales, particularmente *Bacteroides pigmentados* y las recientes taxonomías aprobadas para determinadas especies de este grupo bacteriano, han motivado la revisión de la relevancia que tienen estos microorganismos en la etiopatogenia pulpoperiapical. (2)

El esmalte y la dentina protegen a la pulpa dental de la infección de los microorganismos de dicha flora. Esta barrera puede ser alterada en situaciones diversas: a) a través del trauma dentario profundo, con o sin exposición pulpar, b) procedimientos iatrogénicos en operatoria dental y/o prótesis, c) por caries profunda o filtraciones marginales de las obturaciones, d) en enfermedad periodontal, a través de conductos laterales o de la bifurcación radicular, e) por extensión de una infección periapical de un diente adyacente o f) por un fenómeno de anacoresis, durante una bacteremia. (11)

En las investigaciones realizadas por Kakehasi y cols. demostraron, en 1965, que la contaminación bacteriana del tejido pulpar expuesto, tenía una evolución natural hacia la necrosis, pasando por una inflamación crónica y evolucionando eventualmente a una periodontitis crónica granulomatosa.

Estudios realizados de flora microbiana de los conductos radiculares es realizados recientemente, señalan la presencia de flora polimicrobiana con participación de cuatro o cinco especies, el 90-100% de los abscesos estaba representado por bacterias anaerobias, y el 70-90% de ellos corresponde a la totalidad de los cultivos aislados. Los bacilos anaerobios Gram-negativos y los *peptostreptococos* eran los microorganismos predominantes, siendo *fusobacterium nucleatum*, *peptostreptococcus micros* y el grupo de *prevotella/porfiromonas* las especies más frecuentes. (7)

Sudqvist y cols. (12) relacionaron la prevalencia de *bacteroides pigmentados*, en dientes afectados de absceso *prevotella/porfiromonas* las especies mas frecuentes. Además relacionaron la prevalencia de *bacteroides pigmentados*, en dientes afectados de absceso apical agudo, en un 72%. Observaron que la especie *bacteroides gingival* es responsable de la aparición de abscesos de instauración rápida y aguda, mientras que *bacteroides endodontalis* y *bacteroides intermedius* son responsables de abscesos circunscritos acompañados de sintomatología más encubierta, motivada en parte por la mayor capacidad proteolítica de los primeros, aunque se encuentran asociados a otros especímenes.

INFLUENCIA DE LAS BACTERIAS E INVASIÓN DEL TEJIDO PULPAR

Los microorganismos son factor muy importante en la patogénesis de la enfermedad pulpar. Las bacterias tienen una influencia muy marcada en la destrucción de la pulpa dentaria. La penetración más evidente de estas en el tejido pulpar es a través de la caries dental. Otras vías de entrada pueden ser fracturas en la pieza dentaria, microfiltración por debajo y alrededor de las restauraciones, tal vez, los conductos laterales en relación con enfermedad periodontal. Sin embargo, la pulpa puede sufrir lesión sin invasión directa. (10)

Se ha observado que las bacterias y sus productos secundarios ejercen una influencia directa sobre la pulpa sin exposición.

Se concluye entonces con base en estos estudios, que la dentina expuesta no es barrera impermeable a las bacterias, los elementos bacterianos o las sustancias en las placas bacterianas.

La caries dental resulta ser uno de los mecanismos esenciales para la entrada de bacterias en la pulpa.

Los conductos laterales en la zona de la furcación y aquellos que se ubican en el tercio apical de las raíces dentales sobre sitios donde podrían originarse la afluencia de bacterias entre el periodonto y la pulpa dentaria. Se ha demostrado una tendencia opositora, en el sentido de que las bacterias periodontales y sus productos secundarios, así como el tratamiento periodontal, tienen pocos o nulos efectos sobre la pulpa. (9)

Además de la comunicación con los tejidos duros, también se considera que los organismos periodontales entran en la pulpa a través de las vías linfática y hematogena. En un estudio en el que se utilizaron técnicas aeróbicas y anaeróbicas, McDonald y cols. encontraron diversos microorganismos en dientes intactos con pulpas necróticas. Postularon la teoría de que las bacterias entraban en la pulpa misma a través de conductos linfáticos y vasos sanguíneos del periodonto.

Grossman colocó microorganismos identificables en los surcos gingivales de perros y después de traumatizar los dientes, pudo recuperar los mismos microorganismos de la pulpa. Concluyó que las bacterias entraban en ésta a través de los vasos hematógenos en el ligamento periodontal, mismos que quedaban abiertos después de sufrida la lesión.

En un estudio reciente realizado por Kobayashi y cols. se compararon la microflora de los conductos radiculares y las bolsas periodontales de piezas dentarias no vitales. Las bacterias

predominantes, comunes en ambos sitios fueron *Streptococcus*, *Peptostrococcus*, *Eubacterium*, *Bacteroides* y *Fusobacterium*, para los anaerobios obligados. (9)

Las bacterias pueden lograr acceso al tejido pulpar a partir de lesiones traumáticas del diente. Otros estudios han demostrado la presencia de éstas en piezas dentarias fracturadas. En un estudio extenso de dientes desvitalizados por traumatismo con cámaras pulpares ilesas, Bergenholtz encontró que entre la flora del conducto radicular predominaban las bacterias anaerobias. Por lo general la flora era mixta. Sin embargo, una cepa bacteriana predominaba en más de 50% del número total de cuentas celulares. La microflora no varió con el tipo de traumatismo sufrido por la pieza dentaria.

En un estudio llevado a cabo por Walton y cols. las fracturas radiculares resultaron con bacterias gram-positivas y gram-negativas, con predominio de las primeras.

Otra vía por la que la pulpa puede llegar a infectarse con bacterias es la anacoresis, el mecanismo mediante el cual el tejido enfermo atrae a las bacterias de la circulación general. Csernyei encontró que podía recuperarse una inyección intravenosa de *Brucella abortus* del sitio perirradicular enfermo.

Una fuente de bacterias para la anacoresis es un diente infectado. Allard y cols. inocularon piezas dentarias despulpadas de perros con cultivos puros de cuatro diferentes tipos de bacterias. (9)

CULTIVO BACTERIOLÓGICO DE LOS CONDUCTOS RADICULARES

Antes de la presentación de los tipos de microorganismos que se encuentran en el sistema de conductos radiculares, es preciso analizar las técnicas para el cultivo microbiológico. Cuando previamente se llevaron a cabo estudios utilizando técnicas aeróbicas, los cultivos que

predominaron fueron de microorganismos aerobios y facultativos. No se encontraron anaerobios como *Bacteroides*, debido a la metodología de los cultivos.

Cuando se dio importancia a los medios carentes de oxígeno, se documentó el surgimiento de anaerobios. La técnica de cultivo de algún estudio determinado es el factor determinante del tipo de microorganismo que se encuentra, sea en el espacio del conducto propiamente dicho o en la región perirradicular de la pieza dentaria. (9)

Los medios comunes para el cultivo endodóntico son tioglicolato, caldo de soya de tripticasa (con agar sangre 1%), caldo de glucosa, caldo de infusión de cardiocerebral y caldo de glucosa sérica. Cuando se obtienen muestras, es importante que el orificio del conducto este libre de oxígeno atmosférico, lo cual se logra mediante el empleo adecuado de flujo de gas nitrógeno a través del orificio del conducto antes de obtener las muestras. De esta manera se mantiene el ambiente anaeróbico. (9)

En varios estudios se demuestra la importancia del medio apropiado para el cultivo. El hallazgo en cada experimento resalta la importancia de los medios prereductores, a fin de fomentar el desarrollo de anaerobios y eliminar el oxígeno.

Carlsson y col. han observado que muchas cepas de bacterias anaerobias pueden sobrevivir dos horas o más en un medio suplementado con sangre. Presencia de catalasa en la sangre sujeta a hemólisis destruye los efectos tóxicos del peróxido de hidrógeno que se encuentran en ambiente rico en oxígeno. El peróxido es letal para los microorganismos anaerobios. (9)

CULTIVOS BACTERIANOS EN LA PRÁCTICA DE LA ENDODONCIA

Hay dos razones clínicas para el cultivo de conductos radiculares:

- 1) Determinar el estado bacteriológico del sistema del conducto radicular antes de la obturación, así como valorar la eficacia del procedimiento de debridamiento y
- 2) Aislar la flora microbiana con el fin de hacer pruebas de sensibilidad y resistencia a antibióticos en casos de infecciones persistentes.

Algunos estudios en que se relacionó el éxito o el fracaso del tratamiento endodóntico con el estado bacteriológico del conducto radicular revelaron un índice de éxito promedio de 94% para las obturaciones en conductos "estériles". Esta cifra se comparó con un índice de éxito de 84% para los conductos obturados con un cultivo positivo. (9)

La complejidad de la anatomía interna del conducto radicular y las restricciones para la obtención de muestras del conducto radicular que plantean los coágulos y los restos de tejidos, contribuyen a errores en el muestreo y a la incertidumbre de detectar toda flora del conducto radicular. Además, no hay un solo medio de cultivo que favorezca niveles de desarrollo óptimo de todos los microorganismos que se aíslan de los conductos. Para ser exactos, las muestras de conductos radiculares deberán inocularse en diversos medios de cultivo y tanto en medios aeróbicos y anaeróbicos. (6,9)

LA DINÁMICA DE LOS MICROORGANISMOS

Los microorganismos son criaturas muy polifacéticas o "versátiles". Algunas cepas bacterianas aisladas del espacio pulpar tienen características que complican el proceso patológico y su tratamiento:

1. Algunos son resistentes a los antibacterianos, por ejemplo: *Bacteroides fragilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus fecalis*. (9)
2. Algunos sintetizan productos que pueden modificar el equilibrio del proceso infeccioso a favor del microorganismo invasor con productos como toxinas, cápsulas, irrigantes metabólicos y enzimas extracelulares que degradan el tejido o que inactivan a los antibióticos.
3. Algunos pueden establecer infecciones en sitios distantes al diente mediante extensiones hacia los planos faciales o a través del desarrollo de bacteremia. (9)

En general se acepta que estas características, junto con otras, producen los atributos invasores y tóxicos que se requieren para la invasión bacteriana consumada. La invasividad es la capacidad de las bacterias para mantenerse en la vía de entrada y diseminarse a otras regiones.

Con el fin de lograr esto es necesario que las bacterias invasoras hagan lo siguiente: (9)

1. Tengan propiedades antifagocíticas que pasen por alto las defensas locales del huésped.
2. Se adapten metabólicamente al microambiente de la pulpa, el cual varía desde normal hasta un tejido inflamado y necrótico.
3. Posean vías eficientes de energía, por lo general relacionado con el metabolismo aeróbico. (9)

INVASIVIDAD

Las sustancias superficiales antifagocíticas protegen a las bacterias contra la ingestión fagocítica al modificar la topografía de la superficie bacteriana. Algunas especies producen cápsulas en presencia de suero. Los fagocitos en los tejidos que tienen superficies lisas o grandes cantidades de líquidos no pueden fagocitar eficientemente las bacterias encapsuladas.

Se encuentran cápsulas en algunos de los microbios aislados de la pulpa, incluso de *Streptococcus*, *Bacteroides* y *Fusiformis*. Como defensa, se intensifica la eficiencia fagocítica en la presencia de anticuerpos anticapsulares específicos.

Hay considerable evidencia experimental en el sentido de que la fase inicial previa a la formación de anticuerpo de una infección bacteriana determina el resultado final al cabo de algunas horas. Si la rapidez de la fagocitosis sobrepasa a la rapidez de multiplicación de las bacterias. Es posible que sobrevenga la cicatrización y la reparación. En el caso de que ocurra lo opuesto, los resultados podrían ser fulminantes.

La adaptación metabólica de una bacteria a su entorno exige la presencia de enzimas que puedan utilizar éste para su crecimiento y reproducción. En un ambiente nuevo, no todas las enzimas están inmediatamente presentes, sino que requieren la inducción por mecanismos bacterianos complejos. La inducción es una función que depende del tiempo y que origina un retardo inicial en el crecimiento hasta que pueden sintetizarse las enzimas adecuadas. Para algunas bacterias (en condiciones experimentales óptimas) la duración de la fase de regazo (inducción) puede determinarse en minutos. Durante este período de regazo, las bacterias sin cápsula serían eliminadas con rapidez por fagocitos y otros factores locales del huésped. (9)

Las bacterias que no logran desarrollar las enzimas esenciales perecen o bien, obtienen los productos de estas enzimas suministrados por otras cepas bacterianas a través de una relación simbiótica o comensal singular. Se sabe que se benefician de estas relaciones varias cepas que pueden infectar a la pulpa. *Streptococcus faecalis* y *Lactobacillus arabinosis*, por ejemplo, son simbióticos que secretan fenilalanina y ácido fólico, respectivamente, que sirven a una y a otra especie. Cada uno de estos microbios también genera suficientes cantidades de ácido láctico

para el comensal *Vellionella*. En otra relación comensal, las cepas de *Corynebacterium*, secretan vitamina K para el *Bacteroides melanogenicus* (9)

A través de estas interacciones bacterianas, las bacterias engorrosas pueden crecer en condiciones pulpares desfavorables, como parte de una infección multibacteriana.

Se ha observado que las infecciones multibacterianas de la pulpa producen una respuesta inflamatoria más grave en la pulpa y en los tejidos perirradiculares que las infecciones inducidas por una sola bacteria virulenta, como *Streptococcus* o *staphylococcus*. La presencia de infecciones anaeróbicas mixtas es prevalente en la pulpa. (9)

FACTORES AMBIENTALES

Un factor decisivo en la existencia de bacterias en cualquier medio es la presencia de oxígeno. Este gas es letal para las que no pueden hacer frente a algunos de los productos metabólicos formados en su presencia. Dos sustancias en particular, es radical superóxido (O_2) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), se forman con la transferencia de uno o dos electrones al oxígeno. Estos dos compuestos reaccionan luego con el agua, para formar el radical hidroxilo (-OH). Todas estas sustancias son dañinas para las células debido a sus reacciones con lípidos, ácidos nucleicos y proteínas. (9)

Hay tres enzimas producidas por bacterias tolerantes de oxígeno que pueden destruir las sustancias tóxicas antes enunciadas. La catalasa es una enzima que contiene el grupo hemo o heme y que destruye el peróxido de hidrógeno. La superóxido dismutasa inactiva el radical superóxido, en tanto que las peroxidases, presentes en los aerobios, catalizarán la destrucción de peróxido de hidrógeno. (9)

Según la presencia o ausencia de las enzimas antes mencionadas, las bacterias pueden clasificarse en diferentes grupos:

1. **Aerobios obligados:** como *bacilo tuberculoso*, *pseudomonas* y algunos otros bacilos. Para su crecimiento requieren de oxígeno. Los microorganismos de esta categoría poseen catalasa y superóxido dismutasa.
2. **Anaerobios facultativos:** en este grupo se encuentran bacterias entéricas y *staphylococcus*. Estos microorganismos crecen en presencia o ausencia de oxígeno, producen catalasa y superóxido dismutasa.
3. **Microaerofílicos:** la mayor parte de las bacterias y estreptococos que producen ácido láctico se encuentran de este grupo. Crecen en un ambiente con oxígeno, pero derivan su energía de las vías fermentativas que tienen lugar cuando no hay oxígeno. Estas bacterias crecen bien a bajas tensiones de oxígeno. Los microorganismos microaerofílicos contienen superóxido dismutasa pero carecen de catalasa.
4. **Anaerobios obligados:** Este grupo contiene *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *peptococcus*, y *Peptostreptococcus*. Estas bacterias solo crecen cuando no hay oxígeno, pero tienen una sensibilidad variable al mismo. Todas funcionan solo a potenciales bajos de oxidorreducción. Estos microorganismos carecen tanto de superóxido dismutasa como de catalasa. (9)

HIPÓTESIS

El poder bactericida o antimicrobiano de la marca de Hidróxido de Calcio químicamente puro del Tipo A es más efectiva que la de la marca de Ca(OH)_2 del tipo B y tipo C.

OBJETIVOS

OBJETIVOS GENERALES

- Comparar el efecto antimicrobiano del hidróxido de calcio (USP) marca "A", marca "B" y marca "C".

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar la efectividad antimicrobiana del CaOH (USP), marca A, ante bacterias anaerobias.
2. Evaluar la efectividad antimicrobiana del CaOH (USP), marca B ante bacterias anaerobias.
3. Evaluar la efectividad antimicrobiana del CaOH (USP), marca C ante bacterias anaerobias.
4. Determinar cual de las tres marcas de CaOH (USP) es más eficaz en su efecto antimicrobiano sobre el *Clostridium Perfringens*, *Clostridium sordelli*, *Fusobacterium nucleatum*, *Staphylococcus aureus*.
5. Determinar el grado de acción del CaOH (USP) marca A, marca B, marca C sobre *Clostridium Perfringens*.
6. Determinar el grado de acción del CaOH (USP) marca A, marca B, marca C sobre *Clostridium sordelli*.
7. Determinar el grado de acción del CaOH (USP) marca A, marca B, marca C, sobre *Fusobacterium nucleatum*.
8. Determinar el grado de acción del CaOH (USP) marca A, marca B, marca C, sobre *Staphylococcus aureus*.

VARIABLES

Variables Independientes

- Formula tipo A: (hidróxido de calcio USP + vehículo lidocaína 2%)
- Formula Tipo B: (hidróxido de calcio USP + vehículo lidocaína 2%)
- Formula Tipo C: (hidróxido de calcio USP + vehículo lidocaína 2%)

Variables Dependientes

1. Halo de inhibición producido por el hidróxido de calcio USP combinada con lidocaína al 2% como vehículo, en las cajas de petri sobre las siembras de los siguientes microorganismos:
 - *Clostridium perfringens*
 - *Clostridium Sordellii*
 - *Fusobacterium Nucleatum*
 - *Staphylococcus aureus*
2. Tiempo: En que se evidencia el efecto bactericida.

DEFINICIÓN DE VARIABLES

- Hidróxido de calcio USP: Sustancia química altamente alcalina con un pH aproximado de 12.5. Conocido como una de las más importantes agentes antimicrobianos utilizados durante la terapia endodóntica.

- Lidocaína: Anestésico local tipo no-éster con vasoconstrictor al 2%.
- Efecto Bactericida: Acción de destruir las bacterias.
- Halo de inhibición: Área circunscrita, que da lugar una sustancia o medicamento alrededor de donde fue inoculada de algún microorganismo expresada en mm.
- Tiempo: periodo que será medido en horas para observar, bajo aplicación del hidróxido de calcio USP con el vehículo lidocaina 2%, el crecimiento de las bacterias anaerobias o su eliminación, medido por el halo de inhibición en milímetros.

INDICADORES

1. Efecto bactericida en el halo de inhibición medido en milímetros, observados en las cajas de petri, sobre las inoculaciones de las siguientes bacterias anaerobias:

- *Clostridium perfringens*
- *Clostridium Sordellii*
- *Fusobacterium Nucleatum*
- *Staphylococcus aureus*

2. Tiempo: Número de horas en que se evidencia el efecto bactericida, después de la aplicación del hidróxido de Calcio USP en combinación de lidocaina al 2% como vehículo. Se midió después de 72 horas los halos de inhibición.

3. Marca del hidróxido Calcio. Se han escogido 3 diferentes marcas de Hidróxido de Calcio USP que se encuentran en el mercado:

- *Hidróxido de Calcio USP, marca Ride Dent.*
- *Hidróxido de Calcio USP, marca Moyco, envasado por la casa Henry Sheine.*
- *Hidróxido de Calcio USP, marca Sultan. (usado en la Facultad de Odontología de la USAC).*

METODOLOGÍA

Obtención de los microorganismos

El sobre del kwik-stik (Microbiologics Minnesota, USA) contiene una cepa aislada y liofilizada, para el estudio se utilizaron cuatro sobres kwik-stik, conteniendo las cepas a utilizarse identificadas de la siguiente forma:

A. *Clostridium perfringens*

B. *Clostridium sordellii*

C. *Fusobacterium nucleatum*

D. *Staphylococcus Aureus*

PROCEDIMIENTO

Se hicieron en el laboratorio de microbiología del Hospital General de Accidentes del I.G.S.S., las siguientes preparaciones:

Preparaciones de las pastas

Se hicieron 3 pastas de consistencia cremosa de Hidróxido de Calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) marca A, marca B, marca C en las siguientes cantidades: 0.5 g. de cada una de las marcas de hidróxido de calcio USP disuelta en 5.4 ml de lidocaina al 2%.

Preparación de discos de CaOH (A,B,C)/ vehículo

Los cuatro discos por caja fueron de papel filtro con un diámetro de 6 mm, impregnados con las mezclas de 0.5 g de hidróxido de calcio y 5.4 ml de lidocaína al 2% (Ca (OH)₂ A,B,C/ vehículo) y el disco control, estos discos fueron colocados en cajas de vidrio para ser secados en la incubadora durante 24 horas y luego esterilizados.

Preparación de cajas de petri

A las cajas de petri se les colocará agar Schaedler, y se identificaron con de la A a la D según la cepa que fue sembrada e identificada con la fecha, se dejaron en refrigeración antes de sembrarse las cuatro bacterias anaerobias.

Las bacterias anaerobias se colocaron en tipo de cepa por caja de petri con agar de Schaedler, tres veces cada cepa con las cuatro cepas simultáneamente y se identificaron en el siguiente orden:

- Placa A: *Clostridium perfringens*
- Placa B: *Clostridium Sordellii*
- Placa C: *Fusobacterium nucleatum*
- Placa D: *Staphylococcus aureus*

Manipulación del Kwik-stik

Las cuatro bacterias anaerobias utilizadas vienen liofilizadas: *Clostridium perfringens*, *Clostridium sordellii*, *Fusobacterium nucleatum*, *Staphylococcus aureus*.. Son seis pasos para obtener la cepa:

- PASO 1** Se abrió el sobre protector y se extrajo el Kwik-stik que es el que contiene el hisopo de la cepa.
- PASO 2** Se dejó la parte activa del hisopo hacia abajo, que es donde se encuentra la cepa liofilizada, presionando la parte superior donde viene el fluido hidratante.
- PASO 3** Se verificó que el fluido hidratante resbalará al interior del hisopo parte interior activa.
- PASO 4** Se apretó, exprimiendo la parte inferior activa de forma que se mezcló bien la cepa liofilizada con el fluido hidratante.
- PASO 5** Inmediatamente se remojó bien el hisopo con la suspensión hidratada, conteniendo la cepa.
- PASO 6** Se hizo unas cuantas azadas dentro de tubos de ensayo conteniendo tioglicolato, donde se dejó reposar hasta que multiplicaran las cepas satisfactoriamente.

Se sembraron cada cepa en placas individuales (identificadas de la A a la D previamente) en el agar Schaedler (especial para anaerobios), utilizando el método de inoculación más comúnmente utilizado.

Fase experimental

Se llevó a cabo en el laboratorio de Microbiología del Hospital General de Accidentes del I.G.S.S.

Los tres discos de cada mezcla de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ / vehículo y el disco control, se evaluó su efectividad contra las cuatro cepas de bacterias anaerobias (*Clostridium perfringens*, *Clostridium sordellii*, *Fusobacterium nucleatum*, *Staphylococcus aureus*). Se colocaron en la caja de petri 4 discos a una distancia de 2.5 cm un disco de otro, cada disco tubo un radio libre de 25 mm, probándose las tres marcas de hidróxido de calcio USP, procedimiento que se realizó 3 veces simultáneamente con cada cepa.

Condiciones de incubación

Para el ambiente anaerobio se utilizó el sistema Anaerotest/Anaerocult, que son bolsas que sustituyen las jarras anaerobias, y traen incorporado el catalizador e indicador para lograr confirmar el ambiente anaeróbico, se colocó cada caja en una bolsa, aplicándole el líquido activador que sirve para generar el CO_2 enriquecido, luego se sellaron con el mechero. Para la comprobación de un medio anaerobio se utilizó el sistema Anaerocult/ Anaeroptest.

Empleo:

Para comprobación de un medio anaerobio.

Fundamento:

La forma oxidada (azul) del colorante azul de metileno, en medio anaeróbico exente de oxígeno se transforma en leuco-azul de metileno (inoloro). En caso de presencia de oxígeno, la leucobase reducida se transforma de nuevo en la forma oxidada (azul).

Composición:

Azul de metileno- reductores- estabilizador.

Aplicación:

El indicador se utiliza conjuntamente con un medio de cultivo Anaerocult en caso de uso de una sola caja de Petri. Se emplea conjuntamente con el sistema de identificación, con 1-2 placas microtítulo y el indicador de anaerobiosis Anaerotest en bolsa especial de incubación.

Técnica:

Se humedeció la zona de reacción con una gota de agua destilada y se colocó en el recipiente de anaerobios. Se colocó la cinta Anaerotest sobre la caja de Petri inoculada. Se introdujo la caja de petri en una bolsa especial de incubación. Se humedeció el Anaerocult P con 30 ml de agua. Se introdujo inmediatamente la caja de petri con la cinta de Anaerotest en la bolsa especial de incubación y se selló la bolsa doblemente. El sellado debe tener dos cm. de distancia de la embocadura de la bolsa.

La temperatura de incubación de las cajas fué de 36°C en la incubadora durante 72 horas de estudio por cada cepa.

Observaciones:

Se inoculó las cajas de petri tres veces simultáneamente con una misma cepa, y sus discos impregnados de las tres diferentes marcas de hidróxido de Calcio y su vehículo más el disco control (sin contenido), y el disco control impregnado con lidocaína fueron colocados en cada caja, para ser comparadas entre sí. Se midió el diámetro de los halos de inhibición en milímetros, e indicó la efectividad del hidróxido de calcio USP y cual de las marcas fue más eficaz.

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

En el presente estudio se evaluaron tres marcas de Hidróxido de Calcio USP existentes en el mercado (Henry Shein, Ride Dent y Sultán) y su efecto antimicrobiano sobre cuatro cepas de bacterias anaerobias (*Clostridium perfringens*, *Clostridium sordellii*, *Fusobacterium nucleatum* y *Staphylococcus aureus*). Se realizaron tres cultivos de cada cepa de bacterias simultáneamente y se les inoculo a cada una, las tres marcas de Hidróxido de calcio.

El cuadro N° 1 y la gráfica N° 1 muestran:

El resultado obtenido después de tres pruebas con las tres diferentes marcas de hidróxido de calcio, produciendo un halo de inhibición, con radio expresado en milímetros sobre la bacteria *Clostridium perfringens*.

El cuadro N° 2 y la gráfica N° 2 muestran:

El resultado obtenido después de tres pruebas, con las tres diferentes marcas de hidróxido de calcio, produciendo un halo de inhibición, con radio expresado en milímetros sobre la bacteria *Clostridium sordellii*.

El cuadro N° 3 y la gráfica N° 3 muestran:

El resultado obtenido después de tres pruebas con las tres diferentes marcas de hidróxido de calcio, produciendo un halo de inhibición, con radio expresado en milímetros sobre la bacteria *Fusobacterium necleatum*.

El cuadro N° 4 y la gráfica N° 4 muestran:

El resultado obtenido después de tres pruebas con las tres diferentes marcas de hidróxido de calcio, produciendo un halo de inhibición, con radio expresado en milímetros sobre la bacteria *Staphylococcus aureus*.

El cuadro N° 5 y la gráfica N° 5 muestran:

El radio expresado en milímetros del halo de inhibición, del efecto antimicrobiano del Hidróxido de Calcio marca "Henry Shein" sobre en las cuatro cepas anaerobias. Esta gráfica solo muestra el promedio de las tres pruebas que se realizaron con cada cepa.

El cuadro N° 6 y la gráfica N° 6 muestran:

El radio expresado en milímetros del halo de inhibición, del efecto antimicrobiano del Hidróxido de Calcio marca "Ride Dent" sobre en las cuatro cepas anaerobias. Esta gráfica solo muestra el promedio de las tres pruebas que se realizaron con cada cepa.

El cuadro N° 7 y la gráfica N° 7 muestran:

El radio expresado en milímetros del halo de inhibición, del efecto antimicrobiano del Hidróxido de Calcio marca "Sultán" sobre en las cuatro cepas anaerobias. Esta gráfica solo muestra el promedio de las tres pruebas que se realizaron con cada cepa.

Las pruebas que se utilizaron en este trabajo de investigación, fueron pruebas estadísticas no paramétricas. Las pruebas que se utilizaron específicamente fueron la pruebas de Wilcoxon y la prueba de Kruskal-Wallis.

RESULTADOS OBTENIDOS EN PRUEBA ESTADÍSTICA

Para que haya diferencia significativa el nivel de significancia debe de ser de 0.05.

Según la prueba de Kruskal-Wallis . No hubo diferencia entre las diferentes marcas de Hidróxido de Calcio.

CUADRO N° 1-A

| Comparación | Diferencia |
|-------------------|------------|
| Marca 2 – Marca 3 | 4.9167 |
| Marca 2 – Marca 1 | 3.0833 |
| Marca 1 – Marca 3 | 1.8333 |

Según la prueba de Wilcoxon la comparación entre dos grupos usando el hidróxido de calcio “Henry Shein” y ”Ride Dent”, el índice de significancia fue de 0.1992. (>0.05) No teniendo diferencia significativa entre los dos compuestos.

Según la prueba de Wilcoxon la comparación entre dos grupos usando el hidróxido de calcio “Henry Shein” y “Sultán”, el índice de significancia fue de 0.2897. (>0.05) No teniendo diferencia significativa entre los dos compuestos.

Según la prueba de Wilcoxon la comparación entre dos grupos usando el hidróxido de calcio “Ride dent” y “Sultán”, el índice de significancia fue de 0.1549. (>0.05) No teniendo diferencia significativa entre los dos compuestos.

TABLA No. 1

EFECTO ANTIMICROBIANO DE LAS TRES MARCAS DE C_2OH USP SOBRE: *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*.
UTILIZANDO COMO VEHÍCULO LIDOCAINA AL 2%. RADIO DEL HALO DE INHIBICIÓN EXPRESADO EN mm.

| Prueba | Henry Shein | Ride Dent | Sultan | Control Lidocaina | Control |
|--------------------------------|-------------|-----------|--------|-------------------|---------|
| CLOSTRIDIUM PERFRINGENS | | | | | |
| Prueba 1 | 19 | 22 | 17 | 0 | 0 |
| Prueba 2 | 19 | 22 | 18 | 0 | 0 |
| Prueba 3 | 18 | 19 | 17 | 0 | 0 |
| Promedio | 19 | 21 | 17 | 0 | 0 |

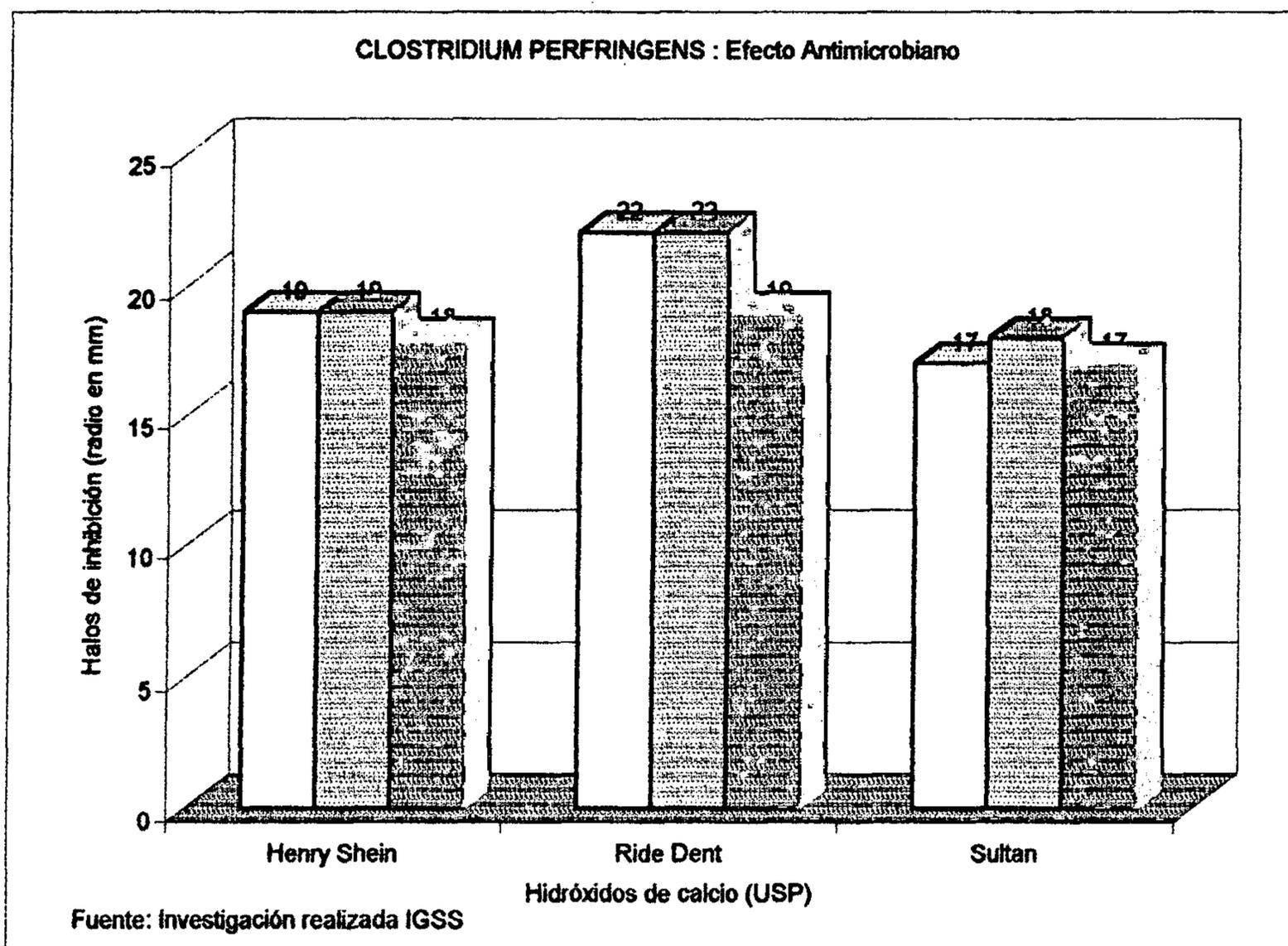
Fuente: Investigación realizada IGSS nov-dic 2002.

INTERPRETACIÓN:

La marca que presentó mayor efectividad sobre la bacteria *Clostridium Perfringens* fue la marca "Ride Dent", con un halo de inhibición de 21 mm. de radio como promedio después de 3 pruebas realizadas.

GRAFICA No.1

EFFECTO ANTIMICROBIANO DE LAS TRES MARCAS DE CaOH USP SOBRE: *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*.
UTILIZANDO COMO VEHICULO LIDOCAINA AL 2%. RADIO DEL HALO DE INHIBICIÓN EXPRESADO EN mm.



INTERPRETACIÓN:

El halo de inhibición se evidenció a las 72 horas de haber sido inoculada tres veces simultáneamente la bacteria *Clostridium perfringens*.

De las tres marcas de Hidróxido de Calcio USP/ lidocaina 2% El Hidróxido de Calcio USP que presentó mayor halo de inhibición que las demás fue la marca "Ride Dent", siendo este de 21 mm como promedio.

TABLA No.2

EFECTO ANTIMICROBIANO DE LAS TRES MARCAS DE CaOH USP SOBRE: CLOSTRIDIUM SORDELLII.
UTILIZANDO COMO VEHÍCULO LIDOCAINA AL 2%. RADIO DEL HALO DE INHIBICIÓN EXPRESADO EN mm.

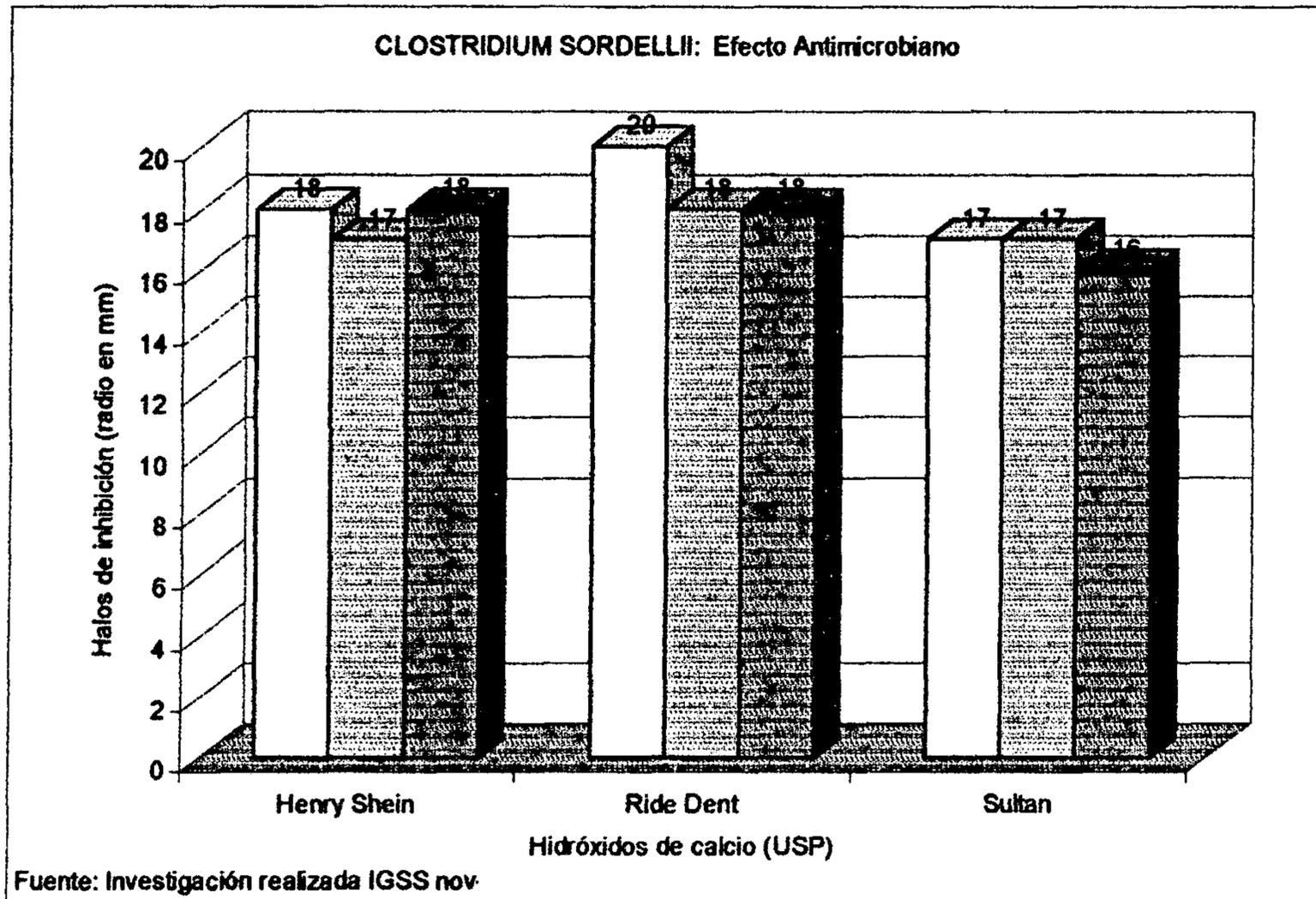
| Prueba | Henry Shein | Ride Dent | Sultan | Control Lidocaina | Control |
|--|-------------|-----------|--------|-------------------|---------|
| CLOSTRIDIUM SORDELLII | | | | | |
| Prueba 1 | 18 | 20 | 17 | 0 | 0 |
| Prueba 2 | 17 | 18 | 17 | 0 | 0 |
| Prueba 3 | 18 | 18 | 16 | 0 | 0 |
| Promedio | 18 | 19 | 17 | 0 | 0 |
| Fuente: Investigación realizada IGSS nov-dic 2002. | | | | | |

INTERPRETACIÓN:

La marca que presentó mayor efectividad sobre la bacteria *Clostridium Sordelii* fue la marca "Ride Dent", con un halo de inhibición de 19 mm. de radio como promedio después de 3 pruebas realizadas.

GRAFICA No.2

EFFECTO ANTIMICROBIANO DE LAS TRES MARCAS DE CaOH USP SOBRE: CLOSTRIDIUM SORDELLII.
UTILIZANDO COMO VEHICULO LIDOCAINA AL 2%. RADIO DEL HALO DE INHIBICIÓN EXPRESADO EN mm



INTERPRETACIÓN:

El halo de inhibición se evidenció a las 72 horas de haber sido inoculada tres veces simultáneamente la bacteria *Clostridium sordellii*.

De las tres marcas de Hidróxido de Calcio USP/ lidocaina 2%. El Hidróxido de Calcio USP que presentó mayor halo de inhibición que las demás fue la marca "Ride Dent", siendo este de 19 mm en promedio.

TABLA No.3

EFFECTO ANTIMICROBIANO DE LAS TRES MARCAS DE C₆H₆O USP SOBRE: FUSOBACTERIUM NUCLEATUM. UTILIZANDO COMO VEHÍCULO LIDOCAINA AL 2%. RADIO DEL HALO DE INHIBICIÓN EXPRESADO EN mm.

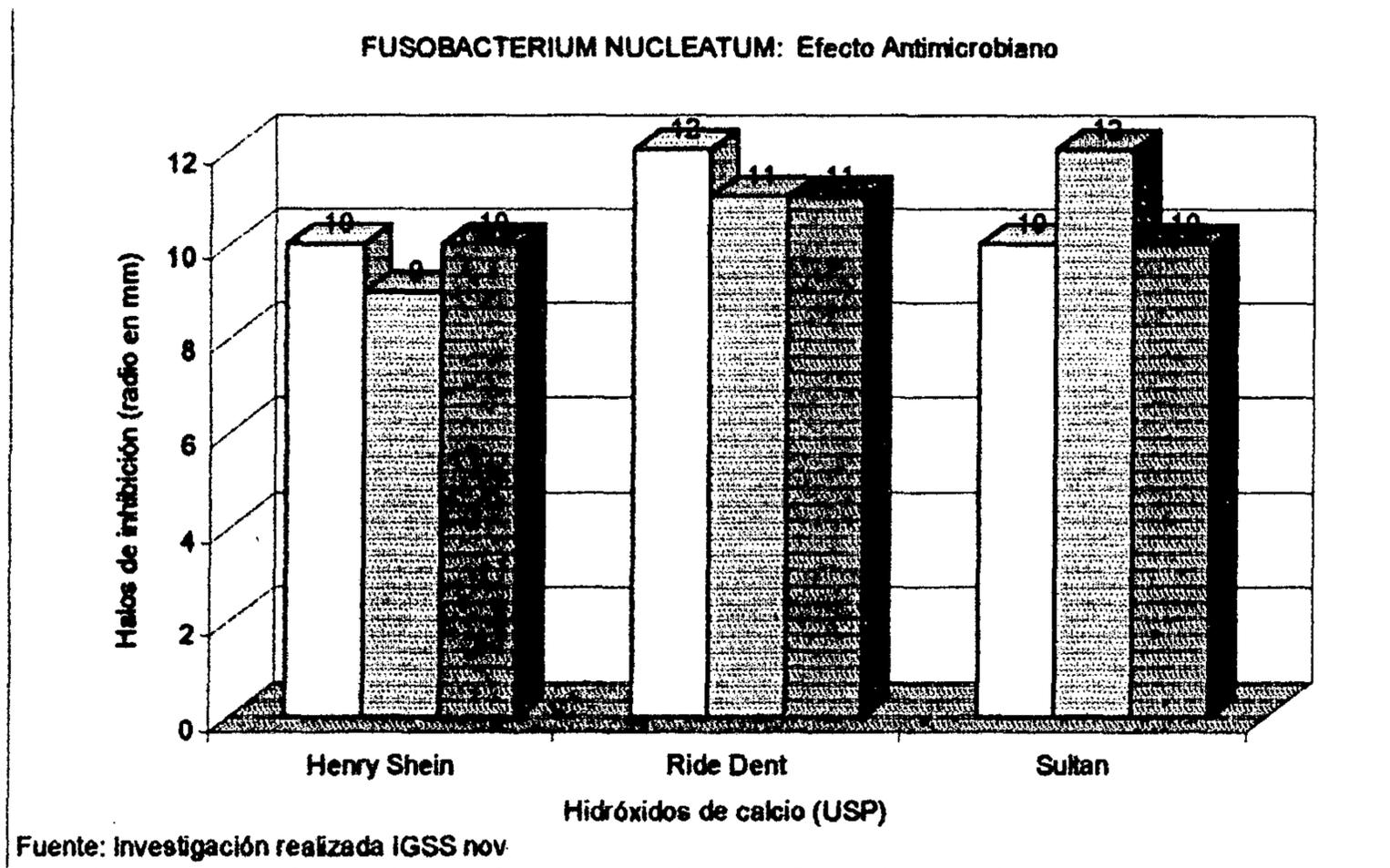
| Prueba | Henry Shein | Ride Dent | Sultan | Control Lidocaina | Control |
|--|-------------|-----------|--------|-------------------|---------|
| FUSUBACTERIUM NUCLEATUM | | | | | |
| Prueba 1 | 10 | 12 | 10 | 0 | 0 |
| Prueba 2 | 9 | 11 | 12 | 0 | 0 |
| Prueba 3 | 10 | 11 | 10 | 0 | 0 |
| Promedio | 10 | 11 | 11 | 0 | 0 |
| Fuente: Investigación realizada IGSS nov-dic 2002. | | | | | |

INTERPRETACIÓN:

La marcas que presentaron mayor efectividad sobre la bacteria *Fusobacterium nucleatum* fueron las marcas "Ride Dent" y "Sultán" con un halo de inhibición de 11 mm. de radio cada una, como promedio después de 3 pruebas realizadas

GRÁFICA No.3

EFEECTO ANTIMICROBIANO DE LAS TRES MARCAS DE CaOH USP SOBRE: FUSOBACTERIUM NUCLEATUM. UTILIZANDO COMO VEHÍCULO LIDOCAINA AL 2%. RADIO DEL HALO DE INHIBICIÓN EXPRESADO EN mm.



INTERPRETACIÓN:

El halo de inhibición se evidenció a las 72 horas de haber sido inoculada tres veces simultáneamente la bacteria *Fusobacterium nucleatum*. De las tres marcas de Hidróxido de Calcio USP/ lidocaina 2%. El Hidróxido de Calcio USP que presentó mayor halo de inhibición que las demás fueron las marcas "Ride Dent" y "Sultán" más que la marca "Henry Shein", presentando estos 11 mm de promedio.

TABLA No.4

EFFECTO ANTIMICROBIANO DE LAS TRES MARCAS DE CaOH USP SOBRE: STAPHYLOCOCCUS AUREUS.
UTILIZANDO COMO VEHÍCULO LIDOCAINA AL 2%. RADIO DEL HALO DE INHIBICIÓN EXPRESADO EN mm.

| Prueba | Henry Shein | Ride Dent | Sultan | Control Lidocaina | Control |
|------------------------------|-------------|-----------|--------|-------------------|---------|
| STAPHYLOCOCCUS AUREUS | | | | | |
| Prueba 1 | 5 | 7 | 6 | 0 | 0 |
| Prueba 2 | 9 | 7 | 8 | 0 | 0 |
| Prueba 3 | 7 | 7 | 9 | 0 | 0 |
| Promedio | 7 | 7 | 8 | 0 | 0 |

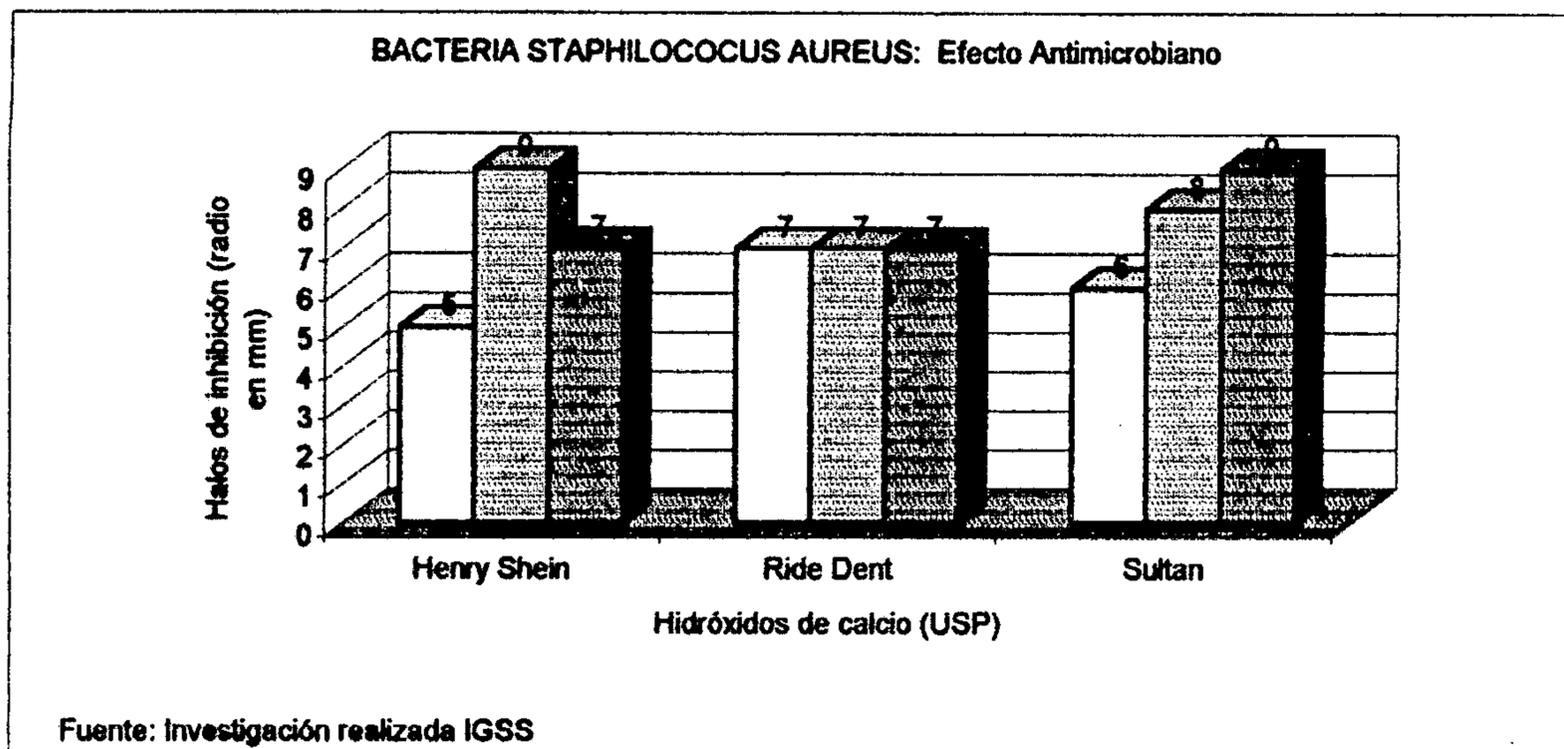
Fuente: Investigación realizada IGSS nov-dic 2002.

INTERPRETACIÓN:

La marca que presentó mayor efectividad sobre la bacteria *Staphylococcus aureus* fue la marca "Sultán", con un halo de inhibición de 8 mm. de radio como promedio después de 3 pruebas realizadas.

GRÁFICA No.4

EFFECTO ANTIMICROBIANO DE LAS TRES MARCAS DE CaOH USP SOBRE: STAPHILOCOCCUS AUREUS. UTILIZANDO COMO VEHÍCULO LIDOCAINA AL 2%. RADIO DEL HALO DE INHIBICIÓN EXPRESADO EN mm.



INTERPRETACIÓN:

El halo de inhibición se evidenció a las 72 horas de haber sido inoculada tres veces simultáneamente la bacteria *Staphylococcus aureus*. De las tres marcas de Hidróxido de Calcio USP/ lidocaina 2%. El Hidróxido de Calcio USP que presentó mayor halo de inhibición que las demás fueron la marca "Sultán" más que las otras dos marcas, presentando esta 8 mm de promedio.

TABLA No.5

EFECTO DEL HIDRÓXIDO DE CALCIO MARCA "A" (HENRY SHEIN) POR TIPO DE BACTERIA UTILIZANDO COMO VEHÍCULO LIDOCAINA AL 2%. RADIO DEL HALO RADIO DE INHIBICIÓN EXPRESADO EN MM.

| TIPO DE BACTERIA | HENRY SHEIN |
|-------------------------|----------------------------------|
| | HALO DE INHIBICION (RADIO EN MM) |
| CLOSTRIDIUM PERFRINGENS | 19 |
| CLOSTRIDIUM SORDELLII | 18 |
| FUSUBACTERIUM NUCLEATUM | 10 |
| STAPHYLOCOCUS AUREUS | 7 |

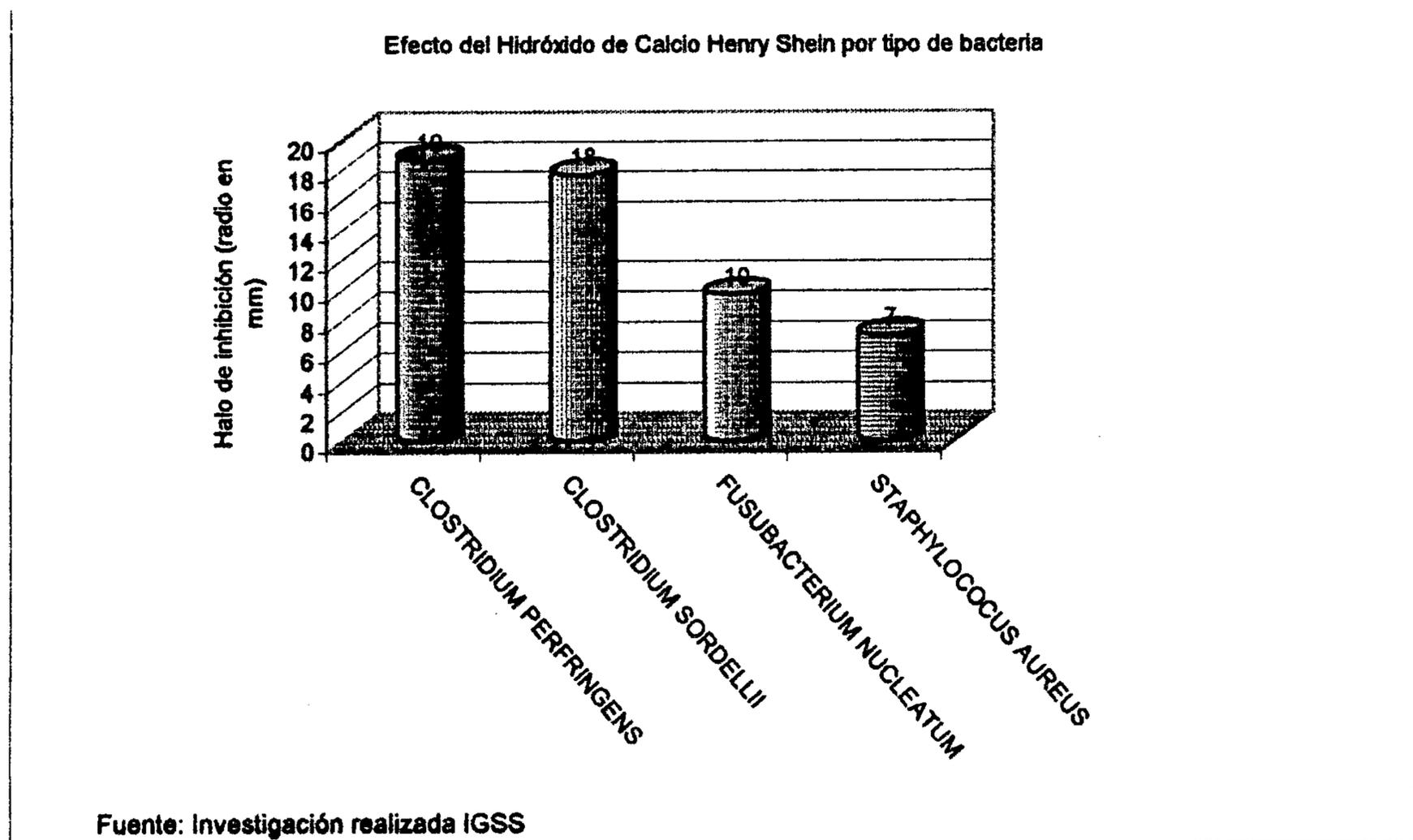
Fuente: Investigación realizada IGSS nov-dic 2002.

INTERPRETACIÓN:

La marca de hidróxido de calcio "Henry Shein" tubo un efecto antimicrobiano mas alto sobre la bacteria *Clostridium perfringens*, que sobre las demás bacterias en estudio.

GRÁFICA No.5

EFEECTO DEL HIDRÓXIDO DE CALCIO MARCA "A" (HENRY SHEIN) POR TIPO DE BACTERIA UTILIZANDO COMO VEHÍCULO LIDOCAINA AL 2%. RADIO DEL HALO RADIO DE INHIBICIÓN EXPRESADO EN MM.



INTERPRETACIÓN:

El halo de inhibición se evidenció a las 72 horas. En esta gráfica se muestra el efecto del Hidróxido de Calcio "Henry Shein" USP sobre cada una de las bacterias en estudio, teniendo un efecto más marcado sobre la bacteria *Clostridium perfringens*, seguida de la bacteria *Clostridium sordellii*, y un efecto menor sobre las bacterias *Fusobacterium nucleatum* y *Staphylococcus aureus*.

TABLA No.6

EFECTO DEL HIDRÓXIDO DE CALCIO MARCA "A" (RIDE DENT) POR TIPO DE BACTERIA
UTILIZANDO COMO VEHÍCULO LIDOCAINA AL 2%. RADIO DEL HALO RADIO DE INHIBICIÓN EXPRESADO EN MM.

| TIPO DE BACTERIA | RIDE DENT |
|-------------------------|----------------------------------|
| | HALO DE INHIBICION (RADIO EN MM) |
| CLOSTRIDIUM PERFRINGENS | 21 |
| CLOSTRIDIUM SORDELLII | 19 |
| FUSUBACTERIUM NUCLEATUM | 11 |
| STAPHYLOCOCCUS AUREUS | 7 |

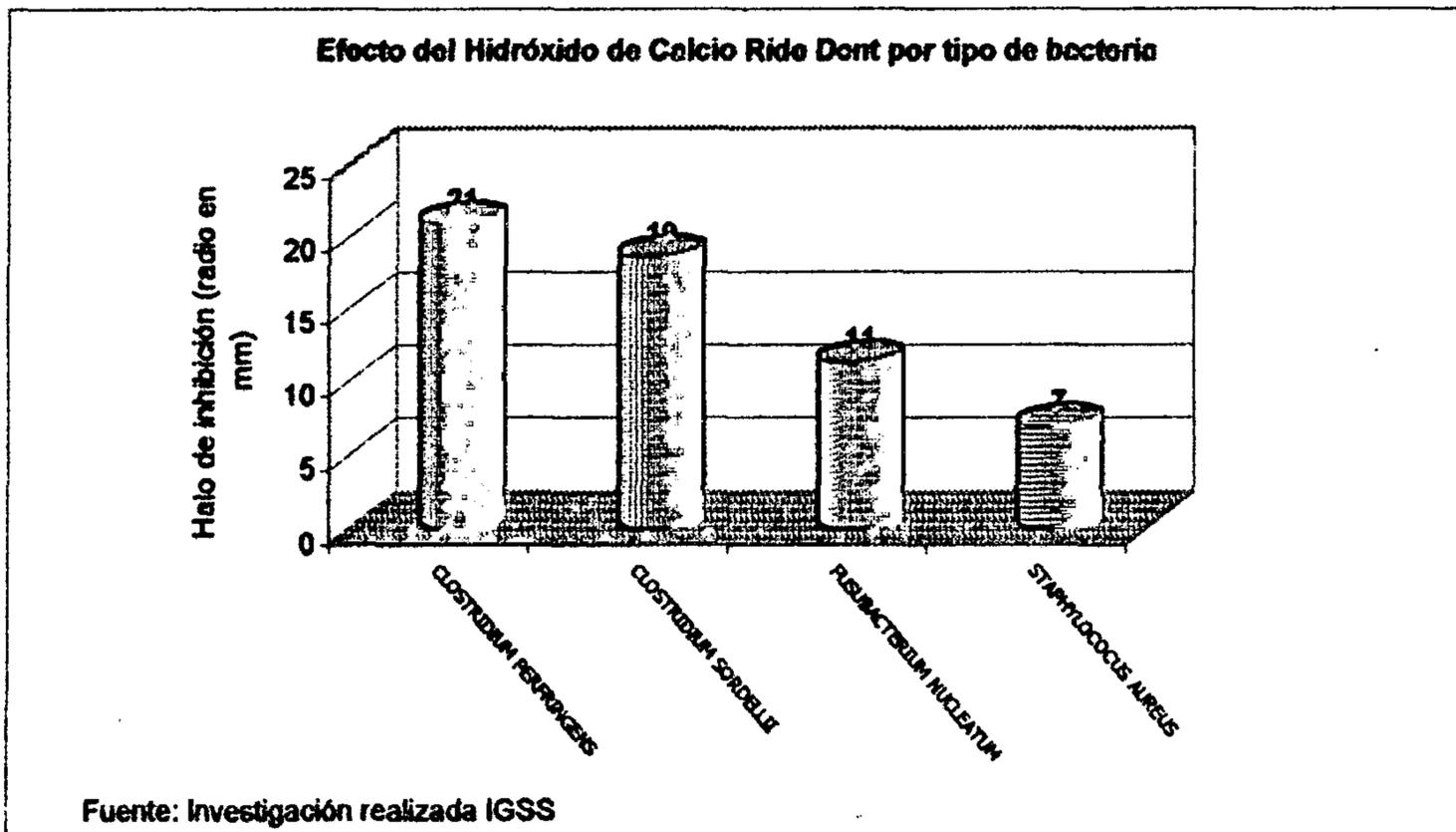
Fuente: Investigación realizada IGSS nov-dic 2002.

INTERPRETACIÓN:

La marca de hidróxido de calcio "Ride Dent" tubo un efecto antimicrobiano mas alto sobre la bacteria *Clostridium perfringens*, que sobre las demás bacterias en estudio.

GRÁFICA No.6

EFFECTO DEL HIDRÓXIDO DE CALCIO MARCA "A" (RIDE DENT) POR TIPO DE BACTERIA UTILIZANDO COMO VEHÍCULO LIDOCAINA AL 2%. RADIO DEL HALO RADIO DE INHIBICIÓN EXPRESADO EN MM.



INTERPRETACIÓN:

El halo de inhibición se evidenció a las 72 horas. En esta gráfica se muestra el efecto del Hidróxido de Calcio "Ride Dent" USP sobre cada una de las bacterias en estudio, teniendo un efecto más marcado sobre la bacteria *Clostridium perfringens*, seguida de la bacteria *Clostridium sordellii*, y un efecto menor sobre las bacterias *Fusobacterium nucleatum* y *Staphylococcus aureus*.

TABLA No.7

EFFECTO DEL HIDRÓXIDO DE CALCIO MARCA "A" (SULTÁN) POR TIPO DE BACTERIA
UTILIZANDO COMO VEHÍCULO LIDOCAINA AL 2%. RADIO DEL HALO RADIO DE INHIBICIÓN EXPRESADO EN MM.

| TIPO DE BACTERIA | SULTAN |
|-------------------------|----------------------------------|
| | HALO DE INHIBICION (RADIO EN MM) |
| CLOSTRIDIUM PERFRINGENS | 17 |
| CLOSTRIDIUM SORDELLII | 17 |
| FUSUBACTERIUM NUCLEATUM | 11 |
| STAPHYLOCOCCUS AUREUS | 8 |

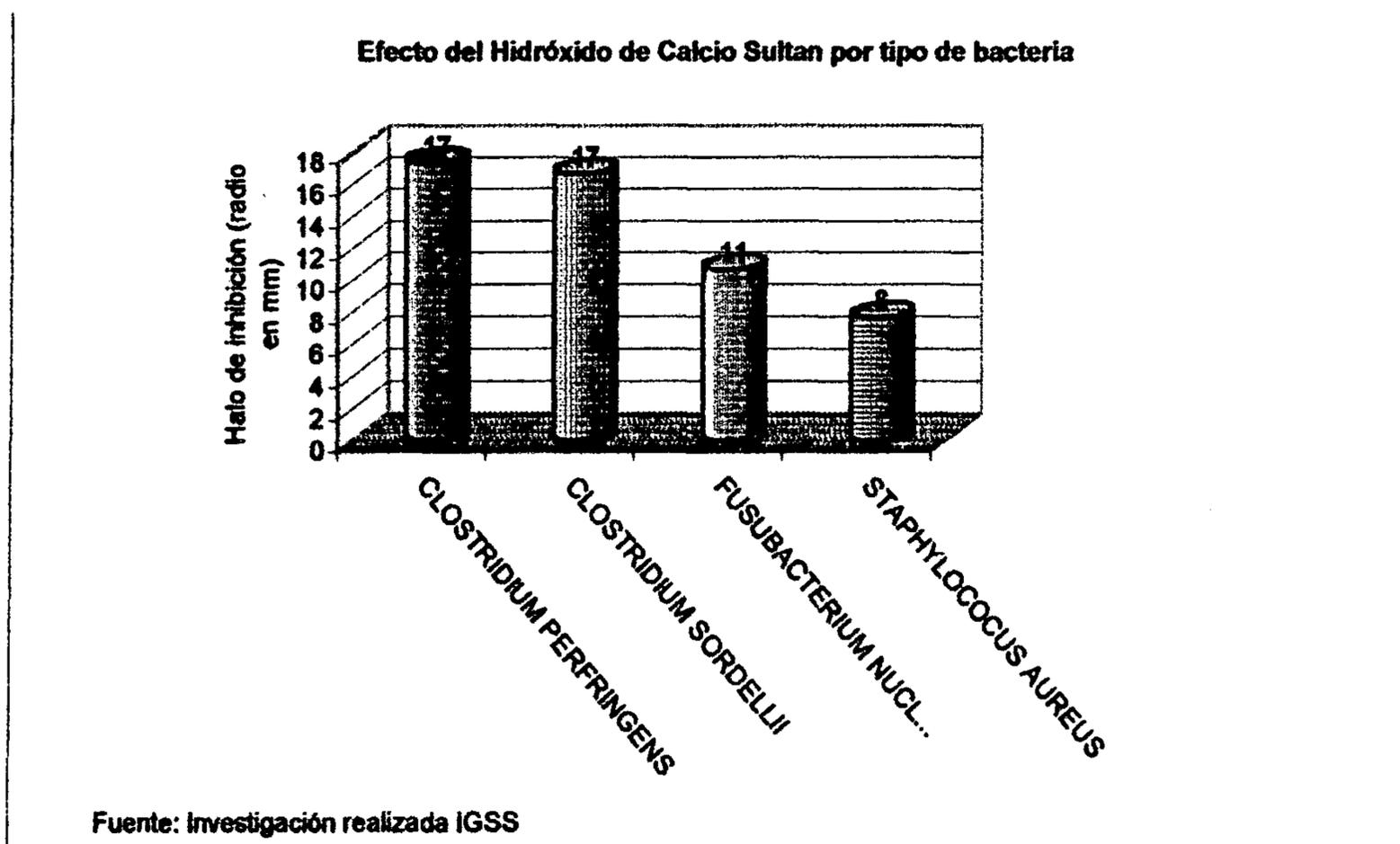
Fuente: Investigación realizada IGSS nov-dic 2002.

INTERPRETACIÓN:

La marca de hidróxido de calcio "Sultán" tubo un efecto antimicrobiano mas alto sobre la bacteria *Clostridium perfringens*, que sobre las demás bacterias en estudio.

GRÁFICA No.7

EFFECTO DEL HIDRÓXIDO DE CALCIO MARCA "A" (SULTÁN) POR TIPO DE BACTERIA UTILIZANDO COMO VEHÍCULO LIDOCAINA AL 2%. RADIO DEL HALO RADIO DE INHIBICIÓN EXPRESADO EN MM.



INTERPRETACIÓN:

El halo de inhibición se evidenció a las 72 horas. En esta gráfica se muestra el efecto del Hidróxido de Calcio "Sultán" USP sobre cada una de las bacterias en estudio, teniendo un efecto más marcado sobre la bacteria *Clostridium perfringens*, seguida de la bacteria *Clostridium sordellii*, y un efecto menor sobre las bacterias *Fusobacterium nucleatum* y *Staphylococcus aureus*.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el presente estudio, se utilizaron cepas puras. La pureza de la especie se confirmó por medio de dos pruebas complementarias: 1. Tinción Gram. 2. La observación de su morfología en el microscopio.

Con relación al efecto que produce las diferentes marcas de Hidróxido de Calcio USP se observó diferencias en el halo de inhibición, lo cual pone de manifiesto la importancia del potencial terapéutico de este medicamento. En ese sentido, los resultados encontrados en este estudio mostraron diferencias no significativas en el efecto antimicrobiano, entre cada una de las marcas de hidróxido de calcio.

La diferencia de efectividad de las tres marcas de Hidróxido de Calcio USP sobre las cuatro cepas de bacterias anaeróbicas (*Clostridium perfringens*, *Clostridium sordellii*, *Fusobacterium nucleatum*, *Staphylococcus aureus*), después de tres pruebas de cultivo de la misma mezcla de Hidróxido de Calcio (CaOH₂/lidocaina al 2%), la marca B (Ride Dent) siendo la más efectiva, sobre la bacteria *Clostridium perfringens*, *Clostridium sordellii*, *Fusobacterium nucleatum* y *Staphylococcus aureus*. Aunque la diferencia encontrada fue mínima, el halo de inhibición de cada uno de los cultivos en promedio fue muy similar en su efectividad.

De la misma forma se evidenció en este estudio el efecto de la mezcla de Hidróxido de Calcio USP marca A, B y C / vehículo (lidocaina al 2%) sobre cada una de las bacterias anaerobias, siendo la bacteria *Clostridium perfringens* y *Clostridium sordellii*, las que presentaron un halo de inhibición más grande. Y el cultivo de bacterias que presentaron un halo de inhibición más pequeños fue la *Fusobacterium nucleatum* y *Staphylococcus aureus*.

Se realizaron pruebas estadísticas para determinar si había diferencia significativa entre las marcas de hidróxido de calcio USP. Las pruebas que se realizaron basados en el programa de estadística EASISTAT, donde se aplicaron las pruebas de Wilcoxon y la prueba de Kruskal-Wallis. Estas pruebas demostraron estadísticamente que no había diferencias significativas entre las marcas de hidróxido de calcio USP estudiadas.

CONCLUSIONES

1. Las tres marcas de hidróxido de calcio "Henry Shein , Ride Dent y Sultán" tuvieron efecto antimicrobiano sobre las bacterias *Clostridium perfringens*, *Clostridium sordellii*, *Fusobacterium nucleatum* y *Staphylococcus aureus*
2. La diferencia de efectividad entre las tres marcas de Hidróxido de Calcio no fue significativa* sobre las cepas en estudio.
3. La efectividad antimicrobiana del Hidróxido de Calcio USP marca A (Henry Shein) es mayor sobre la bacteria *Clostridium perfringens* en comparación a las demás bacterias que se estudiaron.
4. La efectividad antimicrobiana del Hidróxido de Calcio USP marca A (Henry Shein) fue menor sobre las bacterias *Fusobacterium nucleatum* y *Staphylococcus aureus*.
5. La efectividad antimicrobiana del Hidróxido de Calcio USP marca B (Ride Dent) fue mayor sobre la bacteria *Clostridium perfringens* que en las demás bacterias.
6. La efectividad antimicrobiana del Hidróxido de Calcio USP marca B (Ride Dent) fue menor sobre las bacterias *Fusobacterium nucleatum* y *Staphylococcus aureus*.

7. La efectividad antimicrobiana del Hidróxido de Calcio USP marca C (Sultán) fue mayor sobre la bacteria *Clostridium perfringens* que en las demás bacterias.
8. La efectividad antimicrobiana del Hidróxido de Calcio USP marca C (Sultán) fue menor sobre las bacterias *Fusobacterium nucleatum* y *Staphylococcus aureus*.
9. El grado de acción del Hidróxido de Calcio USP de las tres marcas A, B y C sobre la bacteria *Clostridium Perfringens*, fue similar, no habiendo diferencia significativa.*
10. El grado de acción del Hidróxido de Calcio USP de las tres marcas A, B y C sobre la bacteria *Clostridium sordellii*, fue similar, no habiendo diferencia significativa.*
11. El grado de acción del Hidróxido de Calcio USP de las tres marcas A, B y C sobre la bacteria *Fusobacterium nucleatum*, fue similar, no habiendo diferencia significativa.*
12. El grado de acción del Hidróxido de Calcio USP de las tres marcas A, B y C sobre la bacteria *Staphylococcus aureus*, fue similar, no habiendo diferencia significativa.*

* "diferencia significativa" según las pruebas de Wilcoxon y de Kruskal-Wallis

RECOMENDACIONES

1. Analizar alternativas efectivas y de bajo costo para el manejo de infecciones pulpares utilizando hidróxido de calcio.
2. Utilizar la información obtenida de este estudio de tesis para enriquecer y mejorar los programas de estudios de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
3. Continuar con la línea de investigación científica, de otras marcas de Hidróxido de Calcio USP para verificar su efectividad antimicrobiana.
4. Debido a los resultados obtenidos en el presente estudio se recomienda el uso de hidróxido de Calcio USP, de las marcas "Henry Shein", "Ride Dent" y "Sultán", por tener buen efecto antimicrobiano sobre bacterias anaerobias y anaerobias facultativas.

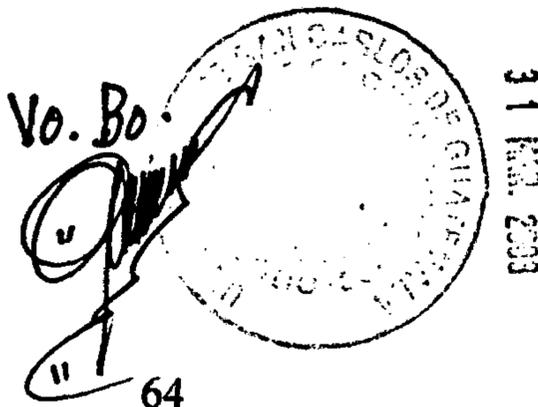
LIMITACIONES

1. Se desconoce la concentración exacta del Hidróxido de Calcio USP distribuida en el mercado, el tiempo de envasamiento y el tiempo de expiración.
2. El calibre del "papel filtro" con el cual se impregnó la mezcla Hidróxido de Calcio, no permite suficiente absorción.

BIBLIOGRAFÍA

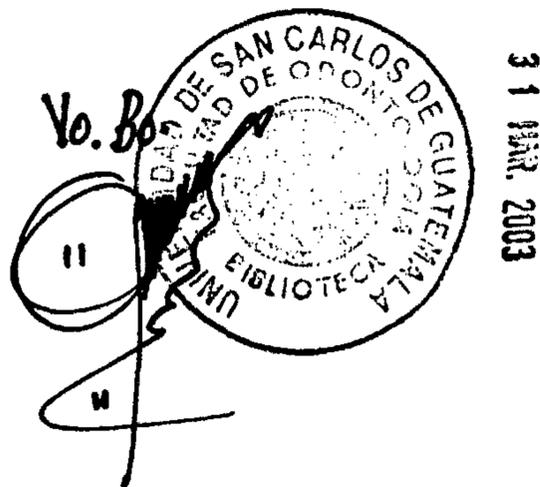
1. Alencar, A. H. G... [et al.]-- Determination of the monochlorophenol residue in the calcium hydroxide + p-monochlorofenol combination used as an intracanal dressing in pulpless teeth of dogs with induced chronic periapical lesion.-- Journal of Endodontics.-- 23(8) : 522 (August 1997)
2. Alvarado, Carlos.-- Evaluación de tratamientos de conductos radiculares, en un grupo de pacientes efectuados en las clínicas de la facultad de odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala.-- Tesis (Cirujano Dentista) -- Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología, 1983. pp 3-40
3. Beltes, Panagiotis G... [et al.] -- In vitro release of hydroxyl ions from six types or calcium hydroxide nonsetting pastes.-- Journal of Endodontics. 23(7) : 413 (July 1997)
4. Estrela, Carlos... [et al.]-- In vitro determination of direct antimicrobial effect of calcium hydroxide.-- Journal of Endodontics .-- 24(1) : 15 (January 1998)
5. Farmacopea de los Estados Unidos.-- 12ª ed. -- U.S.A. : OSP / Mack printing company, 1942.-- pp 105-106.
6. Gini, Gustavo.-- Manual de procedimientos para la identificación de las bacterias con importancia clínica.-- Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Escuela de Química Biológica, Laboratorio Microbiología de Referencia.-- Unidad de Bactereología.- -Guatemala, s. e.-- 1993.-- pp. 79-82.--
7. Guldener, Peter.-- endodoncia / Peter Guldener, Kaore Langeland.-- México : Ediciones Cuellar, 1995 pp.79-92.
8. Hawley, Gassner G.-- Diccionario de química y productos químicos.-- 4ª ed.-- México.-- 1987. Ediciones Omega. pp 161.
9. Ingle , Jonh Ide.-- Endodoncia / Jonh Ide Ingle, Leif K. Bakland ; trad. por José Luis González H.-- 4ª ed. -- México : Nueva Editorial Interamericana, 1994.-- pp 638-669.
10. Leonardo, Mario Roberto.-- Tratamiento de Canais Radiculares. / Mario Roberto Leonardo, Jaime M. Leal. -- 3ª ed.-- Brasil : Editorial Médica Panamericana, 1998. -- pp 516-523, 557-561.

Vo. Bo.
" 64



31 MAR 2003

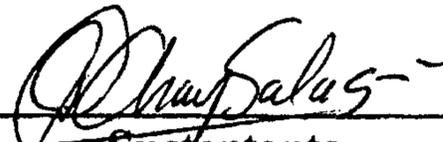
11. Moreira Siliezar, Monica.-- Influencia de cinco diferentes vehículos: lidocaina al 2%, suero fisiológico, glicerina, paramonoclorofenol alcanforado y agua destilada, sobre el efecto bactericida del Hidróxido de Calcio en un estudio in vitro, 2001.--Tesis (Cirujano Dentista) -- Guatemala, Universidad de San Carlos Facultad de Odontología, 2001. 6-43 pp.
12. Pumarola, José... [et al.].-- Papel de las bacterias anaeróbicas en la etiopatogenia de la patología pulpo periapical. -- Endodoncia.-- 11(3) : 135 (Julio- Septiembre 1993)
13. Siquiera, José F.-- Strategies to treat infected root canals. Journal of California Dental Association.-- 29(12) : 825. December 2001.
14. Windholz, Martha.-- The Merck Index.-- 10ª ed.-- U. S. A. : Merck & Co., Inc., 1983. Pp. 1656.
15. Yoshida, Masahiro... [et. al.].-- Correlation Between clinical symptoms and microorganisms isolated from root canals of teeth with periapical pathosis.-- Journal of Endodontics.-- (1) : 24. (January 1987)

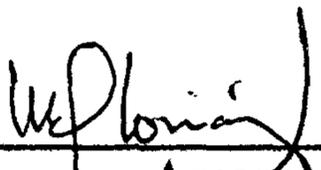


El contenido de esta Tesis es única y exclusiva responsabilidad del Autor.



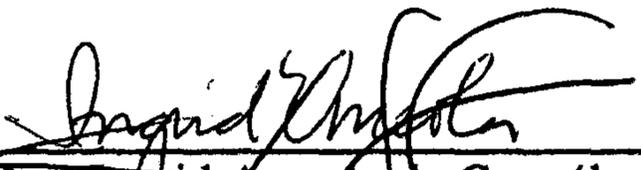
José David Chay Salas


Sustentante
José David Chay Salas


Asesor
Dr. Werner Florián Jerez


Dr. Ricardo León Castillo
Comisión de tesis




Dra. Ingrid Arreola de González
Comisión de Tesis

Imprimase:



Dr. Otto Raúl Torres Bolaños
Secretario